

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Kedokteran gigi merupakan bidang yang berkaitan erat dengan perlukaan atau trauma pada tulang saat perawatan gigi dan mulut. Penyakit periodontal yang parah merupakan salah satu penyebab kerusakan jaringan tulang pendukung gigi yang berakibat kehilangan gigi pada daerah tersebut. Penyakit jaringan penyangga yang berat dapat menyebabkan terjadinya kehilangan atau kerusakan jaringan tulang penyangga (Suardita *et al.*, 2009). Kerusakan tulang rahang merupakan hal yang paling sering dijumpai pasca perawatan pencabutan gigi, infeksi ataupun tumor rahang (Indrani dan Adi, 2012).

Kehilangan sebagian besar tulang akibat dari kerusakan tulang yang berat dianggap tidak dapat disembuhkan. Kemajuan dibidang kedokteran meliputi kedokteran molekuler, biologi molekuler, rekayasa jaringan dan genetik telah membuka cakrawala baru dalam penanganan berbagai macam kondisi muskuloskeletal (Winoto, 2010).

Penyembuhan kerusakan tulang dengan transplantasi tulang menggunakan metode *tissue engineering* (rekayasa jaringan) merupakan alternatif dari perawatan konvensional (Indrani dan Adi, 2012). Prinsip umum dari *tissue engineering* adalah mengkombinasikan sel, *scaffold* atau perancah, dan faktor pertumbuhan (Suardita *et al.*, 2009).

Rekayasa jaringan membutuhkan integrasi yang kompleks antara sel, perancah dan faktor pertumbuhan (Zhang *et al.*, 2013). Sel-sel akan berkembang biak, bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi jaringan khusus dan dengan bantuan faktor pertumbuhan sel akan menghasilkan komponen matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk pembentukan jaringan (Sachlos dan Czemuszka, 2003). Perancah adalah kerangka yang mendukung sel untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi jaringan tulang baru pada daerah kerusakan dengan bentuk dan ukuran seperti yang diharapkan (Kaigler *et al.*, 2011).

Perancah merupakan komponen yang sangat penting dalam metode *tissue engineering* (Sachlos dan Czemuszka, 2003). Perancah yang ideal adalah yang memiliki kemampuan *biocompatible*, *biodegradable*, serta memiliki desain bangunan yang mendukung sel untuk tinggal dan berkembang (O'Brien, 2011).

Koral laut merupakan biomaterial yang lebih dari satu dekade ini digunakan dalam pembuatan perancah karena mengandung unsur kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) yang mirip dengan penyusun tulang. Koral laut memiliki sifat biokompatibel, osteokonduktif yang baik, dapat terabsorpsi, menghantarkan faktor pertumbuhan dengan baik, serta mudah diolah sesuai ukuran dan bentuk yang dibutuhkan (Hou *et al.*, 2006). Kelebihan-kelebihan tersebut membuat koral laut sesuai untuk digunakan sebagai perancah dalam rekayasa jaringan tulang (Wu, 2009).

Keberadaan koral yang melimpah di lautan memudahkan untuk kita mendapatkannya, tetapi koral merupakan habitat alami ikan yang dilindungi untuk menjaga kelestarian sumber daya ikan. Sesuai UU No. 31 tahun 2004 tentang Konservasi Sumber Daya Ikan, disebutkan bahwa “Dalam rangka pelestarian sumber daya ikan, dilakukan upaya konservasi ekosistem, konservasi jenis ikan, dan konservasi genetika ikan”. Merujuk pada undang-undang tersebut koral alami tidak dapat digunakan secara bebas, hal ini mendasari pembuatan dan penggunaan perancah koral buatan berbahan dasar gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  yang memiliki sifat dan karakter mirip dengan koral laut.

Keberhasilan teknik rekayasa jaringan salah satunya didukung oleh perancah yang memiliki kemampuan memberikan lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan sel. Perancah buatan harus memiliki sifat-sifat ideal biokompatibilitas, biodegradasi, dan memiliki desain bangunan yang baik. Perancah yang ideal terbuat dari bahan yang biokompatibel, yang mampu diterima tubuh dan terdegradasi secara bertahap disertai pelepasan faktor pertumbuhan yang menutrisi sel untuk tumbuh dan berkembang (Gaikwad *et al.*, 2008). Gelatin merupakan derivat dari kolagen yang merupakan unsur utama kulit, tulang dan jaringan penghubung. Perancah dengan bahan dasar gelatin mengalami degradasi cepat oleh enzim, sehingga perancah gelatin membutuhkan modifikasi dengan pencampuran bahan lain atau *crosslinking* untuk memperlambat kecepatan degradasi (Ratanavaraporn *et al.*, 2006). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan

pengujian terhadap beberapa perancah dengan konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> berbeda-beda. Hasil penelitian tersebut mengarahkan pada dua konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> 5:5 dan 4:6 sebagai perancah yang sesuai untuk digunakan sebagai implan.

Tujuan dari penggunaan biomaterial adalah untuk mengganti salah satu bagian atau fungsi dari tubuh dengan aman dan dapat diterima secara fisiologis, sehingga dilakukan pengujian terhadap biomaterial agar sesuai untuk diaplikasikan sebagai bahan implan (Warastuti dan Suryani, 2013). Pengujian dapat menggunakan metode *in vitro*, yaitu pengujian yang dilakukan pada media diluar makhluk hidup dengan kondisi lingkungan dibuat seperti normalnya. *Phosphate buffered saline* (PBS) merupakan larutan buffer yang sering digunakan sebagai simulasi plasma tubuh manusia dalam penelitian (Du *et al.*, 2012). Berdasarkan latar belakang tersebut maka profil degradasi perancah koral buatan pada *phosphate buffered saline* perlu diteliti. Pada penelitian sebelumnya, telah diteliti

Melaksanakan prinsip rekayasa jaringan harus menggunakan bahan yang baik, dan tidak berbahaya bagi tubuh, sebagaimana firman Allah SWT dalam ayat: “*dan menghalalkan bagi mereka segala yang baik dan mengharamkan mereka segala yang buruk*” (QS. Al-A’raf 7:157). Berlandaskan ayat tersebut, dalam kita memilih bahan tidak hanya mementingkan kualitas namun juga harus mengutamakan segi kebaikannya.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, dapat dirumuskan adalah apakah terdapat perbedaan profil degradasi perancah koral buatan antara konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> 5:5 dengan 4:6 pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS)?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Tujuan umum penelitian ini adalah mengetahui perbedaan profil degradasi perancah koral buatan berbagai konsentrasi pada *phosphate buffered saline* (PBS).
2. Tujuan khusus penelitian ini adalah mengetahui perbedaan profil degradasi perancah koral buatan konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> 5:5 dengan 4:6 pada *phosphate buffered saline* (PBS).

## **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini bagi:

1. Penelitian besar, data yang didapat dari penelitian ini akan membantu penelitian besar yaitu memberikan gambaran degradasi perancah koral buatan dalam simulasi cairan tubuh.
2. Peneliti, sebagai calon tenaga medis, penelitian ini dapat menambah pengetahuan dan memberikan pengalaman penelitian, serta memberikan motivasi untuk terus menggali ilmu.

3. Rekan Tenaga Medis, dapat menambah pengetahuan baru tentang perancah berbahan dasar gelatin dengan bentuk lembaran sebagai media alternatif dalam perawatan penyembuhan kerusakan tulang.
4. Masyarakat, dapat menambah pengetahuan beberapa alternatif perawatan.

#### **E. Keaslian Penelitian**

Penelitian tentang “Profil degradasi perancah buatan pada larutan *phosphate buffered saline*” belum pernah dilakukan sebelumnya. Beberapa penelitian yang menyerupai penelitian ini adalah :

1. Karakteristik Degradasi dari Biomaterial Poli(kaprolakton-kitosan-hidroksiapatit) Iradiasi Dalam Larutan *Simulated Body Fluid* oleh Warastuti dan Suryani, 2013.

Penelitian ini melihat karakteristik degradasi biomaterial menggunakan komposit yang terbuat dari bahan polikaprolakton (PCL), kitosan dan hidroksiapatit yang direndam dalam larutan *Simulated Body Fluid* (SBF). Penelitian ini menggunakan 3 komposit yaitu komposit I (propilakton 50%, kitosan 25%, hidroksiapatit 25%), komposit II (propilakton 45%, kitosan 35%, hidroksiapatit 20%) dan komposit III (propilakton 25%, kitosan 50%, hidroksiapatit 25%). Komposit direndam dalam larutan SBF steril pada suhu 37°C selama 0 sampai 12 minggu kemudian dilihat gugus fungsi dan struktur mikro permukaan membran komposit. Absorpsi optimal dicapai oleh

membran komposit III setelah 8 minggu perendaman. Absorpsi maksimal pada membran komposit III disebabkan karena komposit III mengandung konsentrasi polikaprolakton paling kecil dan kitosan paling besar, sehingga sifat sifat hidrofobitasnya menurun.

Perbedaan penelitian yang dilakukan oleh Warastuti dan Suryani, 2013, dengan penelitian ini adalah bahan biomaterial dan perendam yang digunakan. Penelitian ini menggunakan biomaterial perancah buatan yang terbuat dari gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  dan bahan perendam *phosphate buffered saline*.

2. *A study on the in vitro degradation of poly(L-lactide)/ chitosan microspheres scaffolds* oleh Ning Zhu, David Cooper, Xiong-Biao Chen, dan Catherine Hui Niu, 2013.

Penelitian ini melihat bagaimana penambahan *Chitosan microspheres* (CMs) pada asam poli laktat (PLLA) dapat meningkatkan biokompatibilitas dan sifat mekanis perancah yang dibuat. Penelitian ini membandingkan tingkat degradasi perancah PLLA dan perancah PLLA dengan penambahan CMs. Perancah masing-masing seberat 70mg direndam pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS) dengan pH 7.4 dan suhu  $37^\circ$  selama 8 minggu. Degradasi perancah dilihat dengan menggunakan *micro computed thography* ( $\mu\text{CT}$ ), analisa massa yang hilang, *Raman spectroscopy*, dan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan CMs pada perancah PLLA dapat

mengurangi tingkat degradasi dibandingkan dengan perancah PLLA tanpa penambahan CMs.

Perbedaan penelitian yang dilakukan oleh Ning Zhu, David Cooper, Xiong-Biao Chen, dan Catherine Hui Niu, 2013, dengan penelitian ini adalah bahan biomaterial dan alat yang digunakan untuk menilai absorpsi. Penelitian ini menggunakan biomaterial perancah buatan yang terbuat dari gelatin dan  $\text{CaCO}_3$ .



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Telaah Pustaka**

##### 1. *Bone Tissue Engineering* (BTE)

*Tissue Engineering* atau rekayasa jaringan adalah lingkungan multi disiplin yang berlandaskan kedokteran klinis, ilmu material, genetika dan ilmu yang berkaitan dengan ilmu kehidupan dan rekayasa (O'Brien, 2011). Rekayasa jaringan tulang atau *bone tissue engineering* (BTE) didasarkan pada pemahaman tentang struktur tulang, mekanik tulang, dan pembentukan jaringan yang bertujuan untuk mendukung terbentuknya jaringan fungsional tulang baru (Amini *et al.*, 2012). Prinsip dasar rekayasa jaringan tulang adalah bertujuan untuk melampaui keterbatasan pengobatan konvensional didasarkan pada transplantasi organ dan implantasi biomaterial. Rekayasa jaringan memiliki potensi untuk menghasilkan sebuah suplai organ imunologis toleran buatan yang dapat tumbuh menyatu dengan pasien. Rekayasa jaringan dapat menjadi solusi dari kerusakan organ atau jaringan tanpa perlu terapi tambahan, sehingga biaya pengobatan menjadi lebih efektif (Sachlos dan Czernuszka, 2003).

Rekayasa jaringan adalah teknologi biomedis yang dikembangkan untuk membantu regenerasi jaringan tubuh dalam mengobati cacat dengan ukuran besar yang tidak mungkin diperbaiki

sendiri oleh jaringan (Tabata, 2003). Prinsip umum dari *tissue engineering* adalah mengkombinasikan sel, *scaffold* atau perancah, dan faktor pertumbuhan (Suardita *et al.*, 2009). Perancah merupakan kerangka yang mendukung perlekatan dan proliferasi sel pada daerah kerusakan, menstabilisasi pembekuan darah untuk mencegah gagalnya pembedakan jaringan, dan sebagai inti diawalinya proses regenerasi (Kaigler *et al.*, 2011). Perancah juga berperan sebagai pembawa faktor pertumbuhan osteokonduktif (Hout *et al.*, 2011). Sel-sel akan berkembang biak, bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi jaringan khusus dan dengan bantuan faktor pertumbuhan sel akan menghasilkan komponen matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk pembentukan jaringan (Sachlos dan Czemuszka, 2003).

## 2. *Scaffold* (Perancah)

*Bone graft* atau cangkok tulang disebut sebagai *gold standart* terapi tulang. Cangkok tulang digunakan untuk memberikan dukungan, mengisi celah kosong antara tulang dan implan, serta dapat mempercepat penyembuhan pada kelainan skeletal (Indahyani *et al.*, 2013). Pengganti tulang ini berfungsi pasif membimbing atau mengantar sel bermigrasi melalui matriks, akhirnya mengarah pada perbaikan kerusakan (Kaigler *et al.*, 2011).

Bauer dan Muschler (2000) mendefinisikan cangkok tulang sebagai: “Materi yang ditanamkan sendiri atau dalam kombinasi

dengan bahan lain untuk meningkatkan respon penyembuhan tulang dengan menyediakan unsur osteogenik, osteoinduktif dan osteokonduktif<sup>3</sup>. Bahan osteogenik dapat didefinisikan sebagai bahan yang memiliki kapasitas melekat untuk membentuk tulang, yang berarti mengandung sel-sel hidup yang mampu diferensiasi menjadi sel-sel tulang. Bahan osteoinduktif memberikan sinyal biologis menginduksi sel-sel lokal memasuki jalur diferensiasi yang mengarah ke osteoblas dewasa. Biomaterial osteokonduktif menyediakan perancah tiga dimensi di mana jaringan tulang lokal dapat menumbuhkan tulang hidup baru. Biomaterial osteokonduktif mempunyai kekurangan tidak dapat membentuk tulang atau mempengaruhi pembentukannya (Torres *et al.*, 2011).

Berdasarkan bahan dasarnya cangkok tulang dapat dibagi menjadi tiga, yaitu:

*a. Autograft*

*Autograft* adalah bahan cangkok tulang yang merujuk pada jaringan tulang diambil dan ditanamkan pada individu yang sama. Dengan demikian, *autograft* adalah jaringan tulang yang diambil dari satu lokasi dan ditanamkan di lokasi lain pada individu yang sama. Komponen seluler cangkok tulang trabekular meliputi beberapa osteoblas dan sebagian besar sel-sel prekursor yang mempertahankan transplantasi. *Autograft* dianggap sebagai material standar dalam regenerasi tulang karena sifat

*osteoconduction*, *osteoiduction*, *osteogenicity* dan *osteointegration*. Kelemahan utama dalam penggunaan cangkok tulang ini adalah perlunya operasi kedua untuk mengambil graft tulang di lokasi donor, meningkatnya waktu operasi, pembatasan dalam jumlah dan bentuk cangkok tulang, dan biaya tambahan (Torres *et al.*, 2011).

*b. Allografts*

*Allograft* didefinisikan sebagai jaringan yang diambil dari satu individu dan ditanamkan ke individu lain dari spesies yang sama. Penggunaan tulang mayat untuk dicangkokkan dikenal sebagai *allograft* dan dianggap sebagai alternatif untuk *autografts* terbaik yang tersedia karena kesamaan karakteristiknya. *Allografts* biasanya diminati oleh pasien sebagai bahan cangkok tulang karena terkait dengan operasi pada daerah donor di *autografts*. Keuntungan utama dari *allografts* adalah mudah didapat, mengurangi biaya dalam hal anestesi (tidak diperlukan anestesi umum) dan mengurangi waktu bedah (Torres *et al.*, 2011).

*c. Xenografts*

Tulang *xenograft* didefinisikan suatu jaringan tulang diambil dari satu spesies dan ditanamkan ke dalam spesies yang berbeda. Salah satu *xenografts* paling umum digunakan adalah anorganik tulang sapi. Anorganik tulang sapi adalah biomaterial dengan laporan keberhasilan jangka panjang dalam literatur

regenerasi tulang dan telah banyak digunakan di klinik selama lebih dari 20 tahun. Unsur anorganik tulang sapi memiliki struktur mirip dengan tulang manusia, terdiri dari hidroksiapatit yang hampir murni, dan diolah secara kimia untuk menghilangkan semua komponen organik sehingga dapat digunakan sebagai bahan cangkok tanpa menimbulkan respon imun pada host (Torres *et al.*, 2011).

Perancah adalah kerangka yang mendukung sel untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi jaringan tulang baru pada daerah kerusakan dengan bentuk dan ukuran seperti yang diharapkan (Kaigler *et al.*, 2011). Perancah pada rekayasa jaringan adalah perancah berpori 3D yang berfungsi untuk menyediakan lingkungan yang sesuai untuk regenerasi jaringan dan organ. Perancah pada dasarnya bertindak sebagai *template* untuk pembentukan jaringan dan biasanya ditambahkan sel punca dan faktor pertumbuhan (O'Brien, 2011).

Pemilihan perancah sangat penting untuk memungkinkan sel dapat bekerja menghasilkan bentuk dan ukuran jaringan maupun organ yang diinginkan (Sachlos dan Czemuska, 2003). Syarat yang harus dipenuhi dalam pembuatan perancah pada rekayasa jaringan adalah: 1) Perancah harus memiliki pori-pori berukuran tepat yang saling terhubung untuk mendukung integrasi dan vaskularisasi jaringan, 2) Terbuat dari material yang dapat mengontrol biodegradabilitas sehingga memungkinkan jaringan baru menggantikan

perancah, 3) Mempunyai permukaan yang cocok untuk perlekatan, proliferasi, migrasi, dan diferensiasi sel, 4) Memiliki kekuatan mekanis yang cukup, 5) Tidak mengandung respon yang merugikan, dan 6) Mudah dibuat menjadi berbagai bentuk dan ukuran (Sachlos dan Czemuszka, 2003).

Biomaterial seperti polimer sintetik, polimer alam dan keramik merupakan bahan dasar pembuatan perancah (O'Brien, 2011). Bahan tersebut memberi dukungan mekanis, adhesi, dan proliferasi untuk perlekatan sel pada perancah (Enrione *et al.*, 2010).

Polimer sintetik seperti asam poliglikolik (PGA), asam polilaktat (PLLA), asam poliglikolat-laktat (PLGA) dan polikaprolakton (PCL) merupakan polimer sintetik yang sering digunakan dalam aplikasi perancah pada rekayasa jaringan (Sachlos dan Czemuszka, 2003). Polimer sintetik merupakan polimer yang disenangi karena pilihan bahan pembuat yang beragam dan mudah diproses. Polimer sintetik memiliki sifat biokompatibel, biodegradabel, dan dapat terkikis (Gaikwad *et al.*, 2008). Kekurangan polimer sintetik adalah adanya risiko penolakan oleh jaringan karena kurangnya bioaktivitas dalam proses degradasi yang menyebabkan penurunan hidrolisis dan menghasilkan karbon dioksida, sehingga terjadi penurunan pH lokal yang menyebabkan kematian sel dan jaringan (O'Brien, 2011).

Polimer alam mempunyai aktivitas alami yang berguna dalam perlekatan sel karena terdapat komponen matriks ekstrasel dan dapat terabsorpsi secara alami selama pembentukan matriks ekstrasel baru, sehingga perancah dengan bahan dasar ini memiliki kemampuan biogradabel yang baik (Enrione *et al.*, 2010). Polimer alam yang digunakan sebagai bahan rekayasa jaringan yaitu fibrin, kolagen, gelatin, chitosan, alginat dan asam hyaluronic (Gaikwad *et al.*, 2008).

Perancah dengan bahan dasar keramik memiliki sifat mekanik yang kuat, biokompatibel dan biodegradabel yang kurang baik (Gaikwad *et al.*, 2008). Perancah keramik memiliki karakteristik kekakuan yang tinggi, elastisitas yang rendah dengan permukaan yang keras namun rapuh. Penggunaan keramik dalam teknik rekayasa jaringan sangat terbatas karena kerapuhan permukaannya (O'Brien, 2011).

### 3. Koral laut

Koral laut adalah biomaterial yang beberapa tahun ini dikembangkan sebagai perancah untuk rekayasa jaringan (Hou *et al.*, 2006). Koral tersusun dari kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ), digunakan sebagai bahan substitusi tulang karena beberapa alasan, yaitu koral merupakan material yang mudah digunakan dalam prosedur pembedahan, tidak harus dilakukan pengambilan tulang autologus, tidak ada penyebab respon inflamasi dan transmisi infeksi dapat

dengan pasti dihilangkan. Koral alami juga memiliki sifat biokompatibilitas, osteokonduktif dan kecepatan resorpsi (Omar *et al.*, 2011).

Struktur koral alami yang biasanya digunakan adalah spesies yang berpori karena struktur bangunan dan kekuatan mekanisnya menyerupai tulang manusia. Diameter porinya adalah berkisar dari 150 sampai 500 $\mu$ m, struktur ini memungkinkan koral untuk memfasilitasi pertumbuhan jaringan pembuluh darah dan tulang dari host. Struktur berpori ini tidak hanya dapat memberikan permukaan internal yang baik untuk adhesi dan migrasi sel, tetapi juga berperan dalam penyerapan nutrisi dan metabolisme. Koral alami mempunyai kemampuan yang baik sebagai material perancah (Omar *et al.*, 2011).

Koral berpotensi digunakan sebagai perancah dalam teknik rekayasa jaringan, akan tetapi koral merupakan habitat alami ikan laut sehingga keberadaannya dalam ekosistem sangat dijaga. Perlindungan terhadap koral laut tertuang dalam UU No. 31 tahun 2004 tentang Konservasi Sumberdaya Ikan, bahwa “Dalam rangka pelestarian sumberdaya ikan, dilakukan upaya konservasi ekosistem, konservasi jenis ikan, dan konservasi genetika ikan”.



#### 4. Perancah Buatan

##### a. Gelatin

Gelatin adalah polimer alam yang umumnya digunakan di bidang medis karena memiliki kemampuan biokompatibilitas dan biodegradasi yang baik pada keadaan fisiologis (Young, 2005). Gelatin merupakan derivat dari kolagen yang merupakan unsur utama kulit, tulang dan jaringan penghubung. Gelatin tidak menunjukkan antigenisitas dan lebih murah daripada kolagen, sehingga gelatin merupakan protein yang sering digunakan. Gelatin memiliki sifat hidrofilik dengan kemampuan menyerap air hingga 10 kali masa keringnya (Ranatavaraporn *et al.*, 2006). Gelatin secara luas digunakan dalam kedokteran sebagai balutan dan juga sebagai bahan perekat yang digunakan dalam operasi (Lim *et al.*, 2010).

##### b. Degradasi gelatin

Kemampuan degradasi suatu perancah mempunyai peran penting dalam proses rekayasa jaringan baru. Tingkat degradasi perancah berpengaruh terhadap kekuatan sel, pertumbuhan sel, dan respon jaringan. Perancah harus terdegradasi dan terserap sepenuhnya oleh tubuh sehingga akhirnya perancah akan digantikan oleh jaringan yang baru terbentuk (Wu dan Ding, 2004).

Kecepatan degradasi perancah yang ideal adalah sama dengan kecepatan terbentuknya jaringan baru (Ratanavaraporn *et al.*, 2006). Menurut perubahan karakteristik perancah, proses degradasi perancah melewati tiga tahapan yaitu tahap I, tahap II, dan tahap III. Tahap I terbagi menjadi dua sub-tahap yaitu tahap I-1 dan I-2. Tahap I-1 ditandai dengan peningkatan sifat mekanis dan menurunnya dimensi porus perancah dengan berat perancah yang konstan, pada tahap I-2 semua bagian kecuali berat molekul tidak terjadi perubahan yang signifikan. Tahap II ditandai dengan meluasnya area *molecular weight distribution* dan penurunan drastis *mechanical properties* dengan berat dan dimensi perancah yang konstan. Tahap III tergambar jelas dengan hilangnya berat molekul, penurunan dimensi dan akhirnya terjadi kerusakan pada keseluruhan perancah. Perancah berpori memiliki kecepatan degradasi yang lebih lambat dibandingkan dengan perancah berstruktur padat dengan formulasi yang sama (Wu dan Ding, 2004).

Perancah dengan bahan dasar gelatin mengalami degradasi cepat oleh enzim, sehingga perancah gelatin membutuhkan modifikasi dengan pencampuran bahan lain atau *crosslinking* untuk memperlambat kecepatan degradasi (Ratanavaraporn *et al.*, 2006).

c. Hidrogel gelatin

Hidrogel merupakan jaringan polimer yang telah di *crosslinking* sehingga memiliki kemampuan untuk mengembang dalam berbagai pelarut dan lingkungan yang basah tanpa adanya pelarutan (Hawkins, 2012). *Crosslinking* digunakan untuk mengontrol kekuatan mekanis dan daya tahan material dengan membuat ikatan-ikatan kimia dalam gelatin. Hasil dari proses *crosslinking* menyebabkan terjadinya perubahan secara biomekanik dan struktural seperti mengurangi antigenitas, menambah kekuatan mekanis, mengurangi daya larut, dan mengurangi tingkat biodegradasi merupakan hal-hal yang diinginkan (Sunarso *et al.*, 2011).

Hidrogel merupakan material yang mirip dengan gel. Perbedaan hidrogel dengan gel adalah sifat hidrogel saat terkena air. Hidrogel mengalami pembengkakan (*swelling*) ketika menyerap air sedangkan gel biasa akan larut begitu saja. Hidrogel mampu menyerap air 5-10 kali bobotnya atau mencapai lebih dari 20% dari total berat keringnya tanpa mengubah bentuk asli tiga dimensi hidrogel (Maddu *et al.*, 2006). Periode degradasi hidrogel tergantung pada air yang terkandung, semakin tinggi kandungan air dalam hidrogel maka semakin cepat degradasinya (Tabata, 2003).

Polimer hidrogel merupakan salah satu pilihan utama yang digunakan dalam pembuatan perancah fungsional untuk memperbaiki jaringan. Elastisitas intrinsik dan ketahanan terhadap air pada hidrogel menyerupai matriks kolagen pada jaringan ikat seperti tulang. Kombinasi antara suatu material keras anorganik dan jaring-jaring hidrogel yang elastik memberikan sifat kekakuan yang rendah, ketahanan terhadap tarikan dan tekanan, dan kemampuan menahan fraktur yang tinggi pada tulang (Chaeriyana *et al.*, 2013).

Hidrogel gelatin memiliki sifat-sifat material dan kemampuan degradabilitas yang baik serta mudah dibuat sehingga dapat digunakan sebagai perancah yang ideal (Pal *et al.*, 2009). Hidrogel mempunyai banyak fungsi dalam rekayasa jaringan. Perancah hidrogel dapat mendukung proses angiogenesis dengan menyediakan tempat bagi sel termasuk sel endotel pembuluh darah untuk beradhesi, proliferasi, dan diferensiasi. Hidrogel juga menyediakan sinyal kimia melalui faktor pertumbuhan (Chaeriyana *et al.*, 2013). Hidrogel gelatin dirancang dan dipersiapkan untuk mengontrol pelepasan faktor pertumbuhan (Matsui dan Tabata, 2012).

#### d. Uji Degradasi Perancah Buatan

Pengujian degradasi perancah dilakukan untuk mengetahui kemampuan biodegradasi perancah agar sesuai untuk

diaplikasikan sebagai bahan implan (Warastuti dan Suryani, 2013). Pengujian degradasi perancah dapat dilakukan secara *in vitro*, yaitu pengujian yang dilakukan diluar tubuh makhluk hidup. Terdapat beberapa metode pengujian degradasi perancah, yaitu:

#### 1.) Uji *Weight Loss*

Langkah yang dilakukan adalah dengan membandingkan berat kering suatu perancah sebelum dilakukan perendaman pada larutan fisiologis dengan berat kering perancah setelah dilakukan perendaman pada interval waktu 15-30 menit. Besar *weight loss* dihitung dengan rumus:

$$\text{Weight loss} = \frac{Wd(t=0) - Wd(t=n)}{Wd(t=0)}$$

Dengan  $Wd(t=0)$  adalah berat perancah kering sebelum direndam dan  $Wd(t=n)$  adalah berat perancah setelah direndam selama interval waktu  $n$  (Dlukha dan Sari, 2014).

#### 2.) Uji Absorbansi

Uji absorbansi dilakukan dengan cara melihat nilai absorbansi/serapan pada larutan fisiologis bekas perendaman perancah yang telah tercampur dengan uraian perancah yang disebut larutan supernatan. Perancah direndam pada lautan fisiologis PBS ditempatkan dalam *microtube* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama interval waktu 1, 3, 6, 24, 48, 72, dan 96 jam. Pada tiap interval waktu, rendaman perancah kemudian disentrifugasi sehingga perancah akan mengendap. Endapan

perancah dipisahkan dari larutan supernatan dan diganti dengan larutan PBS yang baru. Larutan supernatan kemudian diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 280nm (Saito dan Tabata, 2012).

### 3.) Uji Mikroskopis

Mengamati morfologi permukaan perancah dengan menggunakan alat *Scanning Electrone Microscope* (SEM) hingga perbesaran 5000x sebelum dan sesudah dilakukan perendaman pada larutan fisiologis (Dlukha dan Sari, 2014).

## 5. *Phosphate Buffered Saline* (PBS)

*Phosphate Buffered Saline* adalah larutan buffer yang digunakan sebagai simulasi cairan tubuh manusia. *Phosphate Buffered Saline* merupakan larutan garam berbahan dasar air yang mengandung *phosphate buffer*, *sodium chloride* dan *potassium chloride* (Du *et al.*, 2012).

*Phosphate buffered saline* merupakan larutan non-toksik yang digunakan dalam kegiatan laboratorium biologi (Martin *et al.*, 2007). *Phosphate buffered saline* biasa digunakan dalam protokol laboratorium sebagai cairan dilusi, pencuci suspensi sel, dan sebagai aditif media kultur sel (Lichtenaner *et al.*, 2009).

Formulasi PBS:

**Tabel 1.** Formulasi PBS

<b>Formulasi</b>	<b>Konsentrasi (mg/L)</b>
<i>Calcium chloride</i> (CaCl <sub>2</sub> )	100
<i>Magnesium chloride</i> (MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	100
<i>Potassium chloride</i> (KCl)	200
<i>Potassium phosphate monobasic</i> (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	200
<i>Sodium chloride</i> (NaCl)	8000
<i>Sodium phosphate dibasic</i> (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	2160

(Sumber : *Invitrogen Inc., USA*)

## 6. Tulang

Tulang adalah jaringan yang sangat dinamis dan beragam, baik secara struktural maupun fungsional (Amini *et al.*, 2013). Tulang merupakan jaringan ikat khusus yang terdiri atas materi intersel yang mengapur, yaitu matriks tulang dan sel-sel tulang. Matriks tulang mengandung materi anorganik berupa kalsium, fosfor, bikarbonat, sitrat, magnesium, dan natrium merupakan lebih kurang 50% berat kering matriks tulang. Kajian difraksi sinar-X menunjukkan materi kalsium dan fosfor telah membentuk kristal hidroksiapatit. Materi organik adalah 95% kolagen tipe I. Penggabungan hidroksiapatit dengan serat-serat kolagen adalah yang membentuk kekerasan dan ketahanan yang khas untuk tulang (Junqueira, 2007)

a. Matriks tulang

Matriks tulang terdiri atas dua komponen utama, matriks organik 35% dan garam-garam anorganik 65% dari berat keringnya. Matriks organik terdiri atas serat-serat kolagen. Kolagen merupakan 90% dari bagian organik matriks tulang. Bahan anorganik tulang terdiri atas endapan sejenis kalsium fosfat submikroskopik yang sangat mirip tapi tidak identik ( $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$ ) (Fawcett, 2002).

b. Sel-sel penyusun tulang

Sel-sel penyusun tulang dapat dibedakan menjadi 4 jenis, yaitu:

1) Sel osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor (osteogenik) merupakan populasi sel pada embrio selama pembentukan tulang dan menyusun bagian periosteum pada tulang masak (Johnson, 2011). Sel osteoprogenitor tetap ada semasa kehidupan pasca lahir dan ditemukan pada semua permukaan bebas tulang. Sel osteoprogenitor paling aktif selama pertumbuhan namun diaktifkan kembali semasa kehidupan dewasa pada pemulihan fraktur tulang dan bentuk cedera lainnya (Fawcett, 2002).



## 2) Osteoblas

Osteoblas adalah sel pembentuk tulang pada permukaan jaringan tulang yang berfungsi mensintesis komponen organik dari matriks tulang. Sel osteoblas saat aktif terlibat dalam pembuatan matriks mempunyai bentuk kuboid hingga silindris. Osteoblas secara berangsur dikelilingi oleh matriks yang baru terbentuk dan menjadi osteosit (Junquiera, 2007). Aktivitas osteoblas dirangsang oleh hormon paratiroid (Mescher, 2011).

## 3) Osteosit

Osteosit adalah sel tulang dewasa yang berasal dari osteoblas (Junquiera, 2007). Osteosit menempati lakuna pada matriks yang padat dan melekat satu sama lain melalui juluran sel halus yang menempati kanalikuli. Osteosit bereaksi terhadap hormon paratiroid untuk membantu mengatur kalsium darah dan dapat mensekresi matriks ekstraseluler tulang baru (Johnson, 2011). Osteoblas yang diaktifkan oleh hormon paratiroid akan memproduksi suatu sitokin yang disebut faktor perangsang osteoklas (Menschel, 2011).

## 4) Osteoklas

Sel osteoklas merupakan sel raksasa berinti banyak yang dibentuk oleh banyak penyatuan sel mononuklearis

(Johnson, 2011). Osteoklas terletak dalam lekukan pada daerah resorpsi tulang yang disebut *lakuna howship*. Osteoklas berukuran panjang tetapi mereka tidak selalu aktif (Junquiera, 2007).

c. Bone Remodelling

Pertumbuhan tulang umumnya disertai resorpsi parsial jaringan yang ada dan sekaligus peletakan tulang baru yang memungkinkan bentuk tulang dapat dipertahankan selama pertumbuhan tulang (Junquiera, 2007). Proses *remodelling* dan *modelling* mendukung pengembangan dan pemeliharaan sistem kerangka. *Modelling* tulang bertanggung jawab pada pertumbuhan dan adaptasi rangsangan mekanis dari tulang. *Remodelling* tulang bertanggung jawab pada resorpsi dan perbaikan tulang yang rusak untuk menjaga integritas dari kerangka dewasa dan keseimbangan mineral (Raggatt dan Patridge, 2010).

*Remodelling* tulang terjadi selama beberapa minggu oleh kelompok osteoklas peresorpsi tulang dan osteoblas pembentuk tulang yang diatur dalam struktur anatomi sementara yang dikenal sebagai unit multiseluler dasar (Raggatt dan Patridge, 2010). Kecepatan *remodelling* sangat aktif pada anak-anak lebih cepat dibanding pada orang dewasa (Junquiera, 2007).

## B. Landasan Teori

Kerusakan atau kehilangan jaringan tulang merupakan salah satu dampak yang dapat terjadi pasca perawatan gigi. Tulang memiliki kemampuan untuk beregenerasi aktif selama hidup. Tulang mempunyai kemampuan untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Perbaikan kerusakan jaringan yang luas pada tulang tanpa adanya perawatan akan membutuhkan waktu yang lama untuk dapat kembali ke bentuk semula, bahkan besar kemungkinan tulang tidak dapat kembali ke bentuk awal atau daerah kerusakan terisi oleh jaringan lain.

Rekayasa jaringan merupakan teknik yang dikembangkan sebagai perawatan kerusakan jaringan. Rekayasa jaringan merupakan metode yang menggabungkan tiga komponen utama dalam pelaksanaannya. Tiga komponen rekayasa jaringan yaitu *scaffold* atau perancah, sel dan faktor pertumbuhan. Perancah merupakan kerangka sementara yang berfungsi sebagai tempat sel tinggal, berkembang, bermigrasi dan berdiferensiasi sehingga terbentuk jaringan baru yang menutup daerah kerusakan. Perancah harus bersifat biokompatibel, biodegradabel serta memiliki desain bangunan yang mendukung untuk sel tinggal dan berkembang. Sifat biokompatibel adalah kemampuan perancah untuk tinggal, menjalankan fungsinya dan diterima oleh jaringan sekitar tanpa mengalami penolakan oleh imun tubuh. Sifat biodegradabel adalah perancah terurai secara alami di dalam tubuh melalui proses absorpsi dan metabolisme. Perancah yang ideal adalah perancah yang mampu ditinggali oleh sel, dimuati oleh faktor

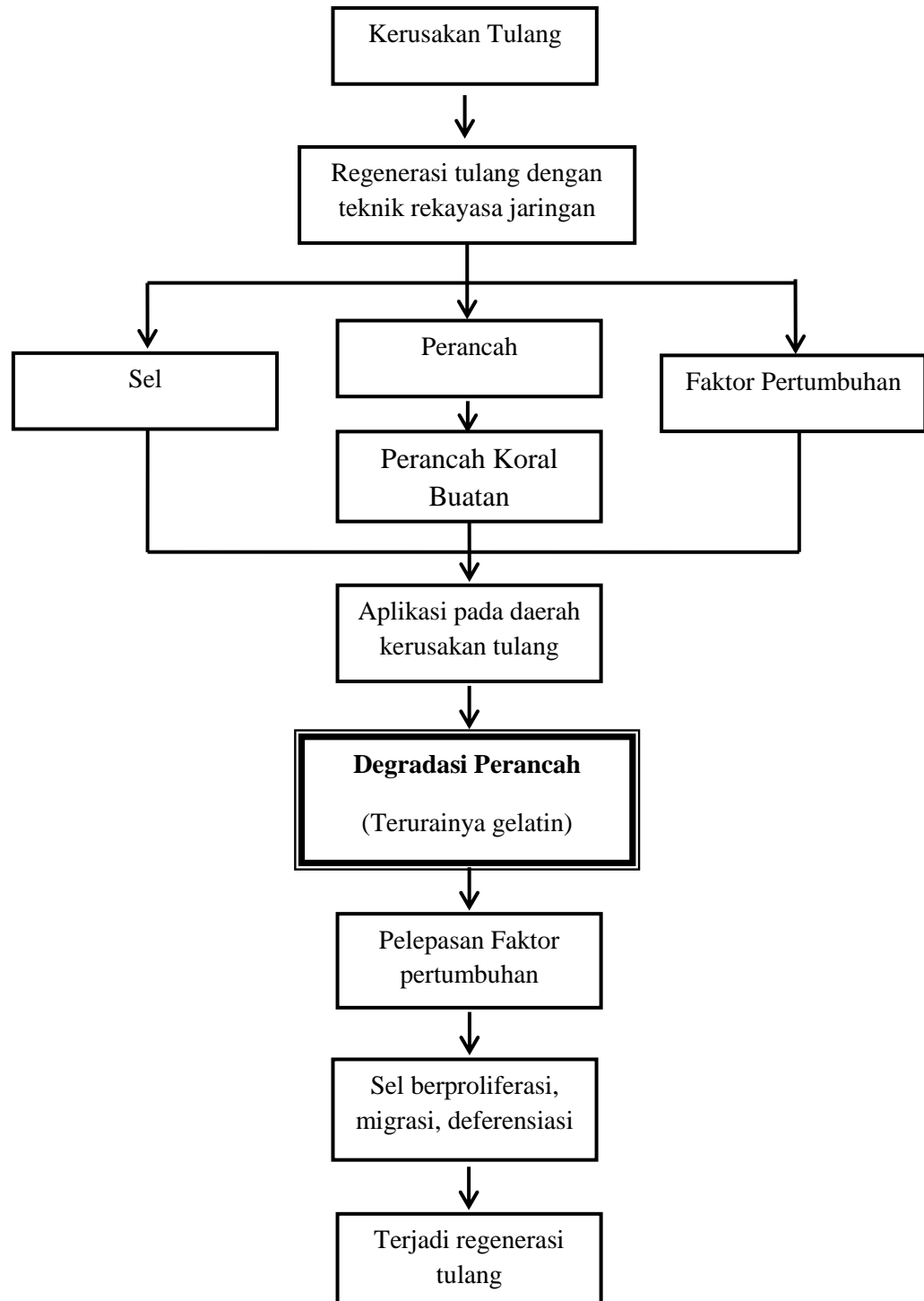
pertumbuhan, diterima oleh jaringan sekitar dan terurai secara alami oleh tubuh secara berkala.

Perancah koral buatan merupakan perancah buatan yang memiliki sifat dan karakter mirip koral laut dengan bahan dasar kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) dan gelatin.  $\text{CaCO}_3$  merupakan material anorganik penyusun tulang, sehingga cocok digunakan sebagai perancah. Ion  $\text{CO}_3^{2-}$  pada material  $\text{CaCO}_3$  diharapkan dapat bersubstitusi dengan gugus fosfat pada kalsium fosfat ( $\text{CaPO}_4$ ) pada tulang. Substitusi ion  $\text{CO}_3^{2-}$  pada gugus fosfat membentuk karbonat apatit tipe A dengan rumus kimia  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ . Tulang memiliki kandungan  $\text{CaCO}_3$  dan kolagen yang berbeda-beda berdasarkan ukuran tubuh, umur, jenis kelamin, dan ras. Gelatin merupakan turunan dari kolagen yang merupakan bagian penting dari tulang, kulit dan jaringan ikat. Gelatin akan cepat terdegradasi pada enzim sehingga perancah berbahan gelatin harus dimodifikasi dengan penambahan bahan lain atau meningkatkan *crosslinking* untuk memperlambat degradasinya. Gelatin di-*crosslinking* dan ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  untuk memperlambat degradasinya. Gelatin yang telah di-*crosslinking* atau disebut sebagai hidrogel gelatin, akan memiliki ikatan yang lebih erat antar molekulnya. Ikatan-ikatan molekul gelatin yang erat akan menahan  $\text{CaCO}_3$  dalam hidrogel gelatin. Gelatin memiliki gugus hidrofilik yang banyak. Perancah yang banyak mengandung gelatin akan lebih besar mengembang dibanding dengan yang sedikit kandungan gelatinnya sehingga akan lebih mudah terurai. Perancah dengan

kandungan gelatin yang lebih sedikit akan lebih kecil mengembang namun ikatan *crosslink* antara molekul gelatin lebih sedikit sehingga lebih lemah dibanding dengan perancah dengan gelatin lebih banyak.

Degradasi perancah berperan sebagai kontrol pelepasan faktor pertumbuhan selama proses penyembuhan berlangsung. Kecepatan degradasi perancah yang ideal yaitu sama dengan kecepatan pembentukan jaringan. Salah satu langkah dalam pengembangan material cangkok tulang adalah menemukan perancah yang optimal dalam membawa substansi yang dibutuhkan dengan durasi dan konsentrasi yang tepat untuk mendukung proses penyembuhan.

### C. Kerangka Konsep



**Gambar 1.** Kerangka konsep

#### **D. Hipotesis**

Berdasarkan uraian diatas, hipotesis dalam penelitian ini adalah perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  5:5 memiliki profil degradasi yang berbeda dengan konsentrasi gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  4:6 pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang telah dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan *post test design*.

#### **B. Subyek Penelitian**

Bahan Uji : Perancah Koral buatan yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **C. Tempat dan Waktu**

Penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk menghitung proses degradasi perancah koral buatan pada larutan *phosphate buffered saline* (PBS) dengan menggunakan alat *Uv-vis Spectrophotometers UVmini-1240 SHIMADZU* pada 14 – 19 Juli 2014.

#### **D. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional**

##### 1. Identifikasi Variabel

###### a. Variabel pengaruh

Konsentrasi perancah koral buatan

###### b. Variabel terpengaruh

Profil degradasi perancah koral buatan

###### c. Variabel terkontrol



- 1) Ukuran perancah
- 2) Volume bahan perendam
- 3) Waktu inkubasi

## 2. Definisi Operasional

- a. Perancah koral buatan dalam penelitian ini adalah perancah yang berbentuk membran tipis dan dibuat dengan teknik hidrogel dengan bahan utama gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  yang dikembangkan oleh tim peneliti rekayasa jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- b. Profil degradasi adalah gambaran kemampuan suatu material dapat terurai hingga habis pada lingkungan sekitar baik secara kimia maupun biologis yang diukur berdasarkan nilai absorbansi menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 280nm.
- c. *Phosphate buffered saline* adalah larutan buffer yang digunakan sebagai simulasi cairan tubuh manusia. *Phosphate buffered saline* merupakan larutan garam berbahan dasar air yang mengandung *phosphate buffer*, *sodium chloride* dan *potassium chloride*.
- d. Supernatan adalah larutan perendam yang telah tercampur dengan gelatin yang terurai dari perancah.
- e. Spektrofotometri adalah metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan

berwarna pada panjang gelombang spesifik yang menggunakan kisi difraksi dengan detektor fototube.

#### **E. Instrumen Penelitian**

1. Bahan Penelitian
  - a. Perancah koral buatan 2 konsentrasi, 5:5 dan 4:6
  - b. Perancah Gelatin 10%
  - c. *Phosphate Buffered Saline* (PBS) pH 7,4
  - d. HCl 1N
2. Alat Penelitian
  - a. *Uv-vis Spectrophotometers UVmini-1240 SHIMADZU*
  - b. Mikrotube
  - c. *Inkubator Memmert*
  - d. *Centrifuge Rotina 35 R*
  - e. Mikropipet
  - f. Alat tulis

#### **F. Jalannya Penelitian**

1. Menyiapkan perancah koral buatan yang dibuat oleh Tim Rekayasa Jaringan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
2. Menyiapkan bahan perendam yaitu *phosphate buffered saline*(PBS).
3. Menyiapkan 9 mikrotube sebagai wadah perendaman perancah.
4. Membuat tiga kelompok A untuk konsentrasi 5:5, B untuk konsentrasi 4:6 dan C untuk gelatin 10% yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 microtube.

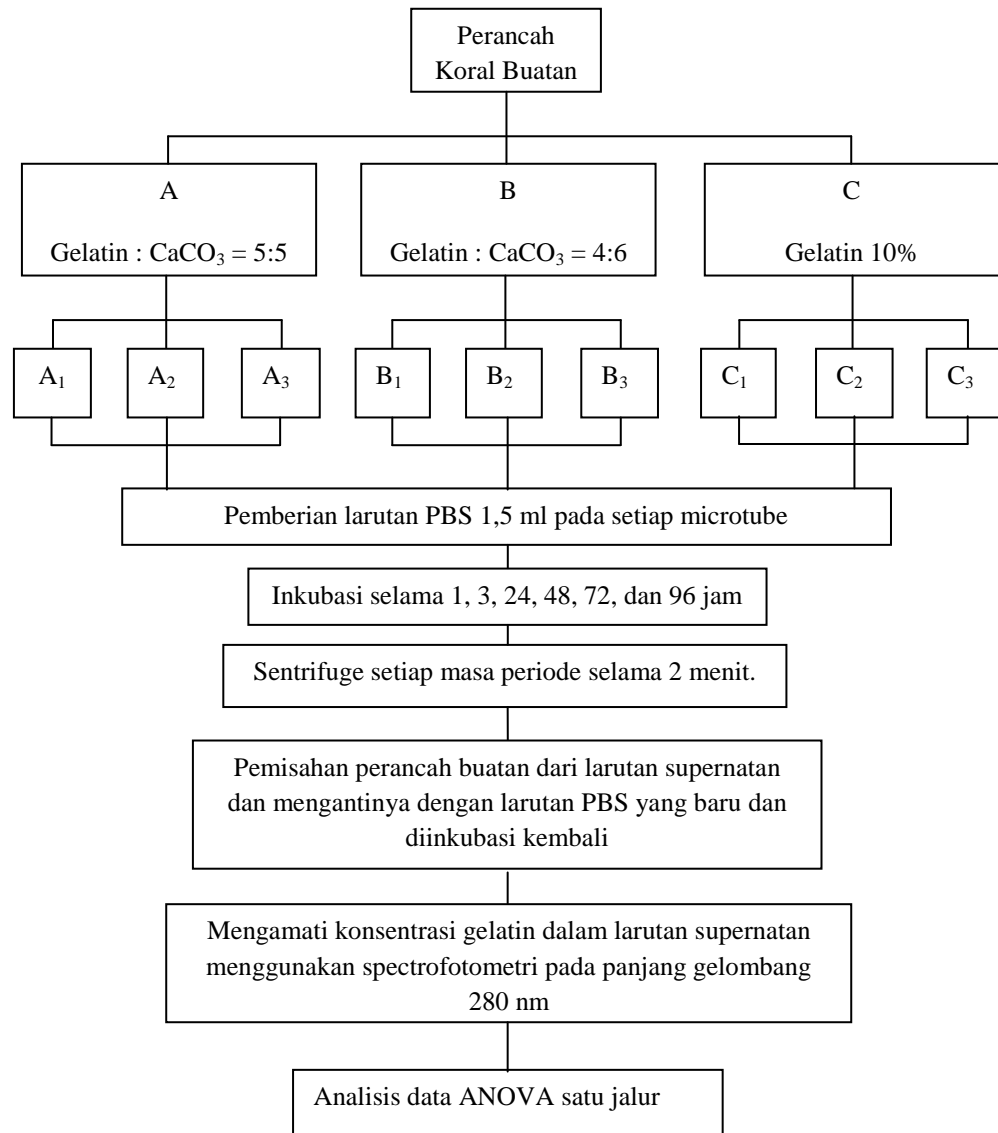
5. Memberikan tanda A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> dan C<sub>3</sub> pada masing-masing mikrotube sesuai kelompoknya.
6. Pada kelompok A, memasukkan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO<sub>3</sub> 5:5 masing-masing seberat 10mg ke dalam mikrotube A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> kemudian memasukkan PBS ke semua mikrotube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
7. Pada kelompok B, memasukan perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan CaCO<sub>3</sub> 4:6 masing-masing seberat 10mg ke dalam mikrotube B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> kemudian memasukkan PBS ke semua mikrotube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
8. Pada kelompok C, Memasukan perancah buatan berbahan dasar gelatin 10% dengan masing-masing seberat 10mg ke dalam mikrotube C<sub>1</sub>,C<sub>2</sub>,C<sub>3</sub> kemudian memasukkan PBS ke semua mikrotube sebanyak 1,5ml menggunakan mikropipet.
9. Memasukkan mikrotube berisi rendaman perancah tersebut kedalam inkubator pada suhu 37°C.
10. Mengamati proses degradasi perancah dalam larutan perendam PBS setelah 1 jam diinkubator.
11. Memisahkan larutan supernatan (hasil perendaman) dengan perancah pada masing-masing mikrotube menggunakan teknik setrifugasi dengan kecepatan 3500rpm selama 2 menit, kemudian mengambil dan mengganti larutan supernatan dengan larutan PBS baru dan masukkan kembali ke dalam inkubator.

12. Mengamati dan mencatat nilai absorbansi masing-masing larutan supernatan dengan menggunakan alat *UVmini-1240 SHIMADZU*.
13. Mengulangi langkah nomor 9-10 pada setiap periode waktu 3, 6, 24, 48, 72, 96 jam.
14. Setelah melakukan pengamatan pada periode 96 jam, dan memisahkan larutan supernatan dengan teknik setrifugasi, kemudian mengganti larutan supernatan dengan larutan HCl 1N sebagai larutan akselerasi dan memasukkan kembali ke dalam inkubator.
15. Mengamati proses degradasi perancah dalam larutan perendam HCl setelah 1 jam diinkubator.
16. Memisahkan larutan supernatan dengan perancah pada masing-masing microtube menggunakan teknik setrifugasi kemudian mengganti larutan supernatan dengan larutan HCl baru dan masukkan kembali ke dalam inkubator.
17. Mengamati dan mencatat nilai absorbansi masing-masing larutan supernatan dengan menggunakan alat *UVmini-1240 SHIMADZU*.
18. Mengulangi langkah nomor 14-16 pada setiap periode waktu 3, 6, dan 24 jam hingga didapatkan nilai absorbansi 100% ketika perancah telah habis seluruhnya.
19. Setelah didapatkan nilai absorbansi 100% dan nilai absorbansi pada tiap interval waktu, kemudian menghitung persentase degradasi perancah koral buatan tiap interval waktu dengan persamaan perhitungan sebagai berikut: (Saito dan Tabata, 2012)

$$\% \text{ degradasi membran per jam } X = \frac{\text{nilai absorbansi jam ke-}X}{\text{nilai absorbansi } 100\%} \times 100\%$$

X = waktu perendaman

### G. Alur Penelitian



**Gambar 2.** Alur penelitian

## H. Analisis Data

Data dari hasil penelitian tersebut dianalisis dan dibahas dengan ANOVA satu jalur dilanjutkan dengan uji *post hoc least significant difference* (LSD) untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok konsentrasi pada tingkat signifikansi 95% untuk data yang terdistribusi normal dan *Kruskal Wallis* untuk data yang tidak terdistribusi normal.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa data kuantitatif berskala rasio. Pengukuran nilai absorbansi degradasi perancah koral buatan dilakukan dengan menggunakan alat *Uv-Vis Spectrophotometers SHIMADZU UVmini-1240* pada setiap interval waktu. Hasil rerata nilai absorbansi dan persentase degradasi perancah dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

**Tabel 2.** Rerata nilai absorbansi perancah koral buatan.

Konsentrasi	Kelompok	Rerata Nilai Absorbansi											
		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	HCl	HCl	HCl	HCl
		1	3	6	24	48	72	96	1	3	6	24	
5:5	A	0,094	0,030	0,050	0,138	0,329	0,429	0,390	0,334	0,149	0,098	0,110	
4:6	B	0,084	0,054	0,054	0,194	0,373	0,397	0,342	0,364	0,157			
Gel 10%	C	0,105	0,044	0,047	0,149	0,317	0,398	0,384	0,162	0,182	0,125	0,168	

**Tabel 3.** Persentase profil degradasi perancah koral buatan.

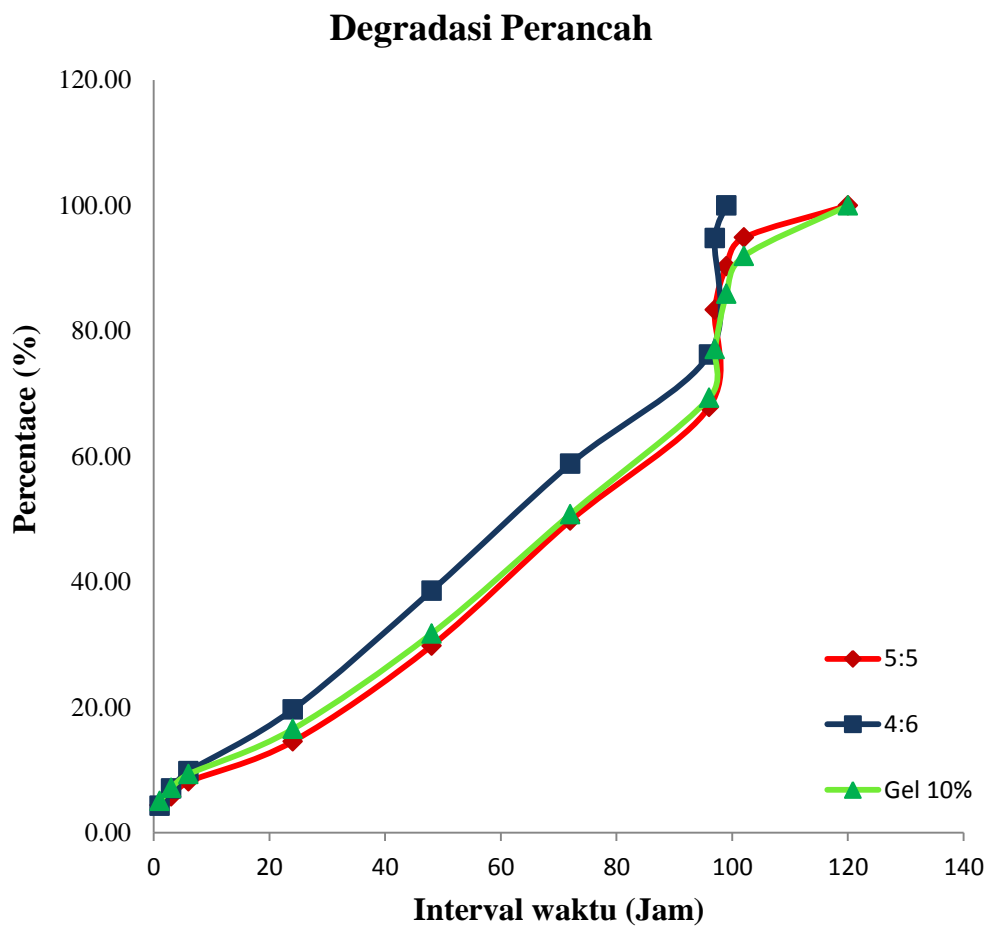
Konsentrasi		Persentase Degradasi Perancah (%)											
		PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	HCl	HCl	HCl	HCl	
		1	3	6	24	48	72	96	1	HCl 3	HCl 6	24	
5:5	Mean	4,36±	5,74±	8,11±	14,52±	29,78±	49,74±	67,86±	83,38±	90,32±	94,88±	100	
	Sd	0,80	1,09	2,09	2,27	1,57	3,52	1,73	1,34	1,32	0,88	0	
4:6	Mean	4,25±	7,00±	9,75±	19,61±	38,56±	58,80±	76,21±	94,79±	100			
	Sd	0,54	0,60	0,86	1,29	1,96	1,55	1,79	4,52	0			
Gel 10%	Mean	5,01±	7,11±	9,31±	16,47±	31,70±	50,75±	69,30±	77,09±	85,89±	91,92±	100	
	Sd	0,74	0,81	2,34	1,63	2,02	5,73	3,43	2,76	1,65	0,36	0	

Data pada Tabel 3. Memperlihatkan perbedaan nilai rerata persentase degradasi perancah koral buatan pada tiap kelompok konsentrasi. Secara horisontal data menunjukkan kenaikan persentase degradasi perancah yang berbanding lurus dengan penambahan waktu. Hal ini dapat dikatakan bahwa proses degradasi berlangsung seiring dengan bertambahnya waktu. Perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  4:6 memiliki rerata kecepatan degradasi paling cepat dibanding perancah dengan konsentrasi 5:5 dan gelatin 10%, yaitu habis sepenuhnya setelah perendaman HCl 3jam.

Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 1 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah gelatin 10% dan persentase terendah pada perancah 4:6. Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 3 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah gelatin 10% dan persentase terendah pada perancah 5:5. Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 24 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 dan persentase terendah pada perancah 5:5. Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 48 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 dan persentase terendah pada perancah 5:5. Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 72 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 dan persentase terendah pada perancah 5:5. Pada perendaman PBS kelompok interval waktu 96 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 dan persentase terendah pada perancah 5:5. Pada perendaman HCl kelompok interval waktu 1 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 dan persentase terendah pada perancah



gelatin 10%, pada kelompok interval waktu ini satu sampel pada kemompok konsentrasi perancah 4:6 telah habis. Pada perendaman HCl kelompok interval waktu 3 jam didapat persentase degradasi tertinggi pada perancah 4:6 yang telah habis seluruhnya dan persentase terendah pada perancah gelatin 10%. Pada perendaman HCl kelompok interval waktu 6 dan 24 jam didapat persentase degradasi pada perancah 5:5 lebih tinggi dibanding perancah gelatin 10%. Pada perendaman HCL interval waktu 24 jam seluruh perancah pada semua kelompok konsentrasi telah habis.



**Gambar 3.** Grafik persentasi degradasi perancah koral buatan

Uji statistik dilakukan sebagai langkah untuk menelaah lebih jauh proses degradasi perancah koral buatan. Penelitian ini menggunakan uji statistik analisa variasi satu jalur (*One way Anova*). Uji normalitas dan uji homogenitas dilakukan terlebih dahulu untuk mengetahui normal atau tidaknya data hasil pengukuran degradasi perancah koral buatan. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 sampel, yaitu sebanyak 9 sampel. Data hasil uji normalitas tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil uji normalitas *Shapiro-wilk* profil degradasi perancah koral buatan.

Konsentrasi	Shapiro Wilk (Sig.)									
	Interval waktu degradasi (Jam)									
	PBS 1	PBS 3	PBS 6	PBS 24	PBS 48	PBS 72	PBS 96	HCl 1	HCl 3	HCl 6
5:5	.948	.843	.078	.266	.754	.341	.984	.433	.297	.195
4:6	.143	.587	.633	.718	.478	.383	.358	.106	.000	
Gel 10%	.549	.059	.340	.577	.951	.685	.219	.118	.772	.160

Hasil uji normalitas terhadap presentase degradasi menunjukkan nilai  $p > 0.05$  pada sebagian besar kelompok yang berarti bahwa data terdistribusi dengan normal dan hanya terdapat satu nilai  $p < 0,05$  yaitu pada kelompok konsentrasi 4:6 interval waktu perendaman 3 jam dengan HCl dengan nilai  $p = 0,000$ , hal ini menjelaskan bahwa data pada kelompok tersebut tidak terdistribusi dengan normal. Hasil uji normalitas pada kelompok konsentrasi 4:6 interval waktu

HCl 6 jam dan semua kelompok konsentrasi pada interval waktu HCl 24 jam tidak dapat ditampilkan karena nilai persentase absorbansi perancah telah menunjukkan tidak adanya distribusi data.

Uji homogenitas dilakukan dengan *Levene's test* pada data yang terdistribusi normal, hasil pengujian homogenitas tersaji dalam Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil uji homogenitas data profil degradasi perancah koral buatan

Interval Waktu Degradasi	Sig. ( $p > 0,05$ )
PBS 1 Jam	.583*
PBS 3 Jam	.479*
PBS 6 Jam	.250*
PBS 24 Jam	.431*
PBS 48 Jam	.896*
PBS 72 Jam	.202*
PBS 96 Jam	.222*
HCl 1 Jam	.079*
HCl 6 Jam	.014

(\*) data terdistribusi normal, signifikansi  $p > 0,05$

Pada uji homogenitas didapatkan nilai  $p > 0,05$  yaitu pada kelompok dengan interval waktu PBS 1 jam, PBS 3 jam, PBS 6 jam, PBS 24 jam, PBS 48 jam, PBS 72 jam, PBS 96 jam, dan HCl 1 jam, dan nilai  $p < 0,05$  pada satu kelompok yaitu interval HCl 6 jam dengan nilai  $p = 0,014$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa data pada kelompok PBS 1 jam, PBS 3 jam, PBS 6 jam, PBS 24 jam, PBS 48 jam, PBS 72 jam, PBS 96 jam, dan HCl 1 jam, memiliki

distribusi data yang normal dan homogen sehingga dapat di lanjutkan dengan uji analisis varians Anova satu jalur. Data kelompok interval HCl 3 jam memiliki distribusi data yang tidak normal dan data kelompok interval waktu HCl 6 jam memiliki distribusi data yang normal tetapi tidak homogen sehingga pengujian statistik kedua kelompok interval waktu tersebut menggunakan pengujian alternatif Anova satu jalur yaitu *Kruskal-Wallis*.

Uji statistik bertujuan untuk menguji apakah rata-rata lebih dari dua sampel berbeda secara signifikan atau tidak, dan menguji apakah dua sampel memiliki varians populasi yang sama atau tidak.

**Tabel 6.** Hasil uji statistik profil degradasi perancah koral buatan antar kelompok

<b>Interval Waktu Degradasi</b>	<b>Sig.(p)</b>	<b>Uji statistik</b>
PBS 1 Jam	.415	<i>One Way Anova</i>
PBS 3 Jam	.174	<i>One Way Anova</i>
PBS 6 Jam	.572	<i>One Way Anova</i>
PBS 24 Jam	.034*	<i>One Way Anova</i>
PBS 48 Jam	.003*	<i>One Way Anova</i>
PBS 72 Jam	.060	<i>One Way Anova</i>
PBS 96 Jam	.012*	<i>One Way Anova</i>
HCl 1 Jam	.001*	<i>One Way Anova</i>
HCl 3 Jam	.298	<i>Kruskal Wallis</i>
HCl 6 Jam	.024*	<i>Kruskal Wallis</i>

(\*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi  $p < 0,05$

Hasil analisis pada Tabel 6. menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok interval waktu PBS 24 jam dengan nilai  $p = 0,034$ ; PBS 48 jam dengan nilai  $p = 0,003$ ; PBS 96 jam dengan nilai  $p = 0,012$ ; HCl 1 jam dengan nilai  $p = 0,001$ , dan HCl 6 jam dengan nilai  $p = 0,024$ . Selanjutnya data hasil uji statistik dengan menggunakan Anova satu jalur dapat dilanjutkan dengan uji *Post hoc* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Uji *post hoc* yang digunakan adalah *Least Significant Difference (LSD)*. Uji LSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok pada interval waktu PBS 24 jam, PBS 48 jam, PBS 96 jam, dan HCl 1 jam.

**Tabel 7.** Ringkasan uji LSD interval waktu PBS 24 jam.

Konsentrasi	4:6	Gelatin 10%
5:5	.013*	.226
4:6		.074

(\*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi  $< 0,05$

Tabel 7. menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok konsentrasi 5:5 dengan 4:6 pada kelompok interval waktu 24 jam dengan nilai  $p = 0,013$ , sedangkan antara kelompok konsentrasi 5:5 dengan gelatin 10% dan 4:6 dengan gelatin 10% tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p = 0,226$  dan  $p = 0,074$ .

**Tabel 8.** Ringkasan uji LSD interval waktu PBS 48 jam.

<b>Konsentrasi</b>	<b>4:6</b>	<b>Gelatin 10%</b>
<b>5:5</b>	.001*	.250
<b>4:6</b>		.004*

(\*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi <0,05

Tabel 8. menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok interval PBS 48 jam antara kelompok konsentrasi 5:5 dan 4:6 dengan nilai  $p=0,001$  dan kelompok 4:6 dan gelatin 10% dengan nilai  $p=0,004$ . Kelompok konsentrasi 5:5 dengan gelatin 10% tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p=0,250$ .

**Tabel 9.** Ringkasan uji LSD interval waktu PBS 96 jam.

<b>Konsentrasi</b>	<b>4:6</b>	<b>Gelatin 10%</b>
<b>5:5</b>	.006*	.496
<b>4:6</b>		.013*

(\*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi <0,05

Tabel 9. menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok interval PBS 96 jam antara kelompok konsentrasi 5:5 dan 4:6 dengan nilai  $p=0,00$  dan kelompok 4:6 dan gelatin 10% dengan nilai  $p=0,013$ . Kelompok konsentrasi 5:5 dengan gelatin 10% tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p=0,496$ .

**Tabel 10.** Ringkasan uji LSD interval waktu HCl 1 jam.

Konsentrasi	4:6	Gelatin 10%
5:5	.004*	.050
4:6		.000*

(\*) terdapat perbedaan bermakna, signifikansi <0,05

Tabel 10. menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada kelompok interval HCl 1 jam antara kelompok konsentrasi 5:5 dan 4:6 dengan nilai  $p=0,004$  dan kelompok 4:6 dan gelatin 10% dengan nilai  $p=0,000$ . Kelompok konsentrasi 5:5 dengan gelatin 10% tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai  $p=0,050$

## B. Pembahasan

Penelitian mengenai perbedaan profil degradasi perancah koral buatan berbagai konsentrasi pada *phosphate buffered saline* menghasilkan data pada Tabel 2 dan Tabel 3 yang menunjukkan bahwa proses degradasi perancah berlangsung seiring dengan waktu dan adanya perbedaan nilai degradasi antar kelompok konsentrasi pada tiap interval waktu.

Degradasi gelatin merupakan terurainya molekul gelatin pada perancah. Degradasi gelatin dipengaruhi oleh beberapa hal seperti suhu inkubasi, durasi inkubasi, pelarut, tingkat keasaman, dan ikatan silang (*crosslinking*) (Bosch dan Gielens, 2003; Haugh *et al*, 2011; Saito dan Tabata, 2012). Seiring dengan inkubasi dan bertambahnya waktu, faktor-faktor

tersebut akan berpengaruh terhadap kestabilan perancah sehingga proses degradasi akan terus terjadi dan meningkat hingga perancah habis (Bosch dan Gielens, 2003; Haugh *et al*, 2011). Dalam penelitian ini faktor-faktor diatas telah dikendalikan dan masuk ke dalam variabel terkendali sehingga hanya perbandingan konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> yang berpengaruh terhadap profil degradasi perancah koral buatan.

Perendaman perancah dalam PBS menimbulkan degradasi material. *Phosphate Buffered Saline* menguraikan ikatan molekul yang kekuatannya lebih lemah terlebih dahulu (Patel dan Dwidevi, 2013). Kekuatan ikatan kovalen antara molekul-molekul gelatin lebih lemah dibanding ikatan ionik antara molekul gelatin dan CaCO<sub>3</sub>.

Ikatan kovalen molekul gelatin akan diurai terlebih dahulu dan akan melemah seiring dengan berjalanya waktu. Tahap terurainya ikatan molekul gelatin tergambar dari data nilai degradasi pada kelompok interval waktu 1, 3, dan 6 jam yang tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi. Melemahnya ikatan kovalen antar molekul gelatin menyebabkan penguraian berlanjut kepada ikatan ionik gelatin dan CaCO<sub>3</sub>, sehingga pada akhirnya perbedaan konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> memberikan pengaruh pada profil degradasi perancah. Gelatin memiliki gugus hidrofilik yang banyak sehingga ketika mendapat hidrasi yang tinggi, hidrogel gelatin akan mengembang dan mulai terdegradasi karena kekuatan antar rantai molekul tidak mampu menahan kekuatan dari luar (Dlukha dan Sari, 2014). Kekuatan antar rantai molekul yang dimaksud dalam penelitian ini adalah ikatan ionik



antara molekul gelatin dan  $\text{CaCO}_3$ . Pengaruh konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  terhadap profil degradasi perancah terlihat setelah melewati interval waktu 24 jam, data menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok konsentrasi.

Uji statistik Anova satu jalur menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada profil degradasi interval waktu perendaman PBS 24, 48, 96, dan HCl 1 jam pada masing-masing kelompok konsentrasi. Berdasarkan uji *post hoc Least Significant Difference (LSD)* kelompok konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  4:6 memiliki perbedaan profil degradasi yang bermakna dibanding dengan kelompok konsentrasi 5:5 pada interval waktu 24 jam, 48 jam, 96 jam dan HCl 1 jam; dan kelompok konsentrasi gelatin 10% pada interval waktu 48 jam, 96 jam, dan HCl 1 jam. Kelompok konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  5:5 dengan gelatin 10% tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada ke-empat interval waktu tersebut. Kelompok konsentrasi 4:6 memiliki jumlah ikatan kovalen paling sedikit, dimana konsentrasi gelatin kelompok ini paling sedikit dibanding dua kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan kovalen pada kelompok konsentrasi 4:6 lebih cepat habis dan ikatan ionik terurai lebih awal dibanding dengan dua kelompok lainnya. Ikatan ionik yang lebih awal terurai menyebabkan perancah konsentrasi 4:6 menjadi perancah yang paling cepat terdegradasi secara keseluruhan.

Syarat penting suatu bahan agar dapat berikatan dengan tulang hidup adalah dengan terbentuknya lapisan apatit mirip tulang pada permukaan bahan di dalam tubuh. Para peneliti biomaterial sepakat bahwa terbentuknya

apatit pada material yang direndam dengan larutan simulasi cairan tubuh merupakan bukti ke-bioaktifan material tersebut, yang digunakan sebagai antisipasi kemampuan material untuk berikatan dengan tulang secara *in vivo* (Warastuti dan Suryani, 2013).

*Crosslinking* digunakan untuk mengontrol sifat mekanik dan daya tahan bahan dengan interkoneksi kimia jaringan gelatin. *Crosslinking* menciptakan ikatan peptida antara gugus karboksil (-COOH) dan gugus amina (-NH<sub>2</sub>) molekul gelatin. Proses *crosslinking* menyebabkan perubahan struktural maupun biokimia seperti penurunan antigenitas, peningkatan sifat mekanik, mengurangi kelarutan, dan mengurangi tingkat biodegradabilitas (Sunarso *et al.*, 2011).

Secara struktural, tulang merupakan suatu komposit dari kolagen, pola hidrogel berbasis protein, dan unsur anorganik (karbonat apatit) yang merupakan komponen osteokonduktif (Chaeriyana *et al.*, 2013). Sarkar *et al.*, 2005 menggunakan MTA (*mineral trioxide aggregate*) sebagai pengisi saluran akar gigi dan menyimpan sampelnya pada PBS melaporkan bahwa kalsium pada MTA bereaksi dengan *phosphate* pada PBS dan membentuk hidroksiapatit. Pada penelitian ini dimungkinkan kalsium karbonat pada perancah dapat bereaksi dengan *phosphate* pada PBS dan membentuk karbonat apatit tipe A ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3$ ) yang merupakan fase yang stabil secara termodinamika pada kondisi fisiologis. Karbonat apatit mengandung ion karbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) untuk membentuk apatit bioaktif yang meningkatkan

disolusi dan sifat resorpsi oleh osteoklas dan digantikan tulang baru (Chaeriyana *et al*, 2013).

Gelatin mengalami degradasi cepat oleh enzim, sehingga perancah gelatin membutuhkan modifikasi dengan pencampuran bahan lain dan *crosslinking* untuk memperlambat kecepatan degradasi (Ratanavaraporn *et al.*, 2006). Penambahan  $\text{CaCO}_3$  pada perancah gelatin menghadirkan ikatan antara ion  $\text{R-COO}^-$  gelatin dengan  $\text{Ca}^{2+}$  pada  $\text{CaCO}_3$ . Proses *crosslinking* menyebabkan ikatan antar molekul gelatin menjadi erat dan rapat dengan molekul  $\text{CaCO}_3$ .

Berdasarkan penelitian ini, degradasi perancah koral buatan dipengaruhi oleh konsentrasi gelatin dan kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) dengan ikatan-ikatan pada perancah berupa ikatan interkoneksi molekul-molekul gelatin dan ikatan ionik gelatin dengan kalsium karbonat.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa perancah koral buatan dengan konsentrasi gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  5:5 memiliki profil degradasi yang berbeda dengan konsentrasi gelatin dan  $\text{CaCO}_3$  4:6 setelah perendaman 24 jam pada *phosphate buffered saline*.

#### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan profil degradasi perancah koral buatan pada *phosphate buffered saline*. Adapun saran yang dapat di berikan, yaitu:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui profil degradasi perancah koral buatan pada kultur sel dengan pemuatan faktor pertumbuhan dan sel.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui profil degradasi perancah koral buatan secara *in vivo* pada hewan coba.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amini, A. R., Laurencin, C. T., & Nukavarapu, S. P. (2012). Bone tissue engineering: recent advances and challenges.
- Bauer, T. W., & Muschler, G. F. (2000). Bone graft materials: An overview of the basic science. *Cim OrthopRelats Res*, 10-27.
- Bosch, E.V.D., &Gielens, C. (2003). Gelatin degradation at elevated temperature. *Int. J.Biol.Macromol.* 32: 129-138
- Chaeriyana, R., Ridho, F., & Bandriananto, D. A. (2013). Peningkatan jumlah pembuluh darah akibat aplikasi graft hidrogel-CHA pada soket pasca pencabutan gigi (kajian in vivo). 1.
- Du, S., Kendall, K., Toloueinia, P., Mehrabadi, Y., Gupta, G., & Newton, J. (2012). Aggregation and adhesion of gold nanoparticles in phosphate buffered saline.
- Dlukha, R.N., & Sari, D.P. (2014). Formulasi membran hidrogel berpori berbasis kombinasi HMPC (Hydroxy Propyl Mhethyl Cellulose) dan gelatin dengan metode ice particle leaching serta penetapan karakteristik fisik-mekanik. *Naskah Publikasi Karya Tulis Ilmiah*.
- Enrione, J., Osorio, F., Lopez, D., Oppenheimer, C.W., & Fuentes, M.A. (2010). Characterization of a Gelatin/Chitosan/Hyaluronan scaffold-polymer. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 13. No. 5.
- Fawcett, D. W. (2002). *Buku Ajar Histologi* (12 ed.). EGC.
- Gaikwad, V. V., Patil, A. B., & Gaikwad, M. V. (2008). Scaffold for Drug Delivery in Tissue Engineering. *International Journal of Pharmaceutical Science and Nanotechnology*, 1, 113-122.
- Hawkins, A. M. (2012). Biodegradable hidrogel and nanocomposite polymers: syntesis an characterization for biomedical appications.
- Haugh, M.G., Murphy, C.M., McKieman, R.C., Altenbuchner, C., & Brien, F.J.O. 2011. Crosslinking and mechanical properties significantly influence cell attachment, proliferation, and migration within collagen glycosaminoglican scaffolds.*Original Article Tissue engineering*. Mary Ann Liebert Inc. Dublin. 1-3.

- Hou, R., Chen, F., Yang, Y., Cheng, X., Gao, Z., Yang, H. O., et al. (2006). Comparative study between coral-mesenchymal stem cells-rhBMP-2 composite and auto-bone-graft in rabbit critical-sized cranial defect model. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 85-93.
- Hout, W. M., van der Molen, A. M., Breugem, C. C., Koole, R., & Van Cann, E. M. (2011). Reconstruction of the alveolar cleft: can growth factor-aided tissue engineering replace autologous bone grafting? A literature review and systematic review of results obtained with bone morphogenetic protein-2. *Clin Oral Invest.*
- Indahyani, D. E., Hamzah, Z., & Lestari, P. E. (2013). Preliminary study of amorphous silica husk rice as synthetic bone graft material : the effect on osteoblasts activities (in-vitro).
- Indrani, D. J., & Adi, W. A. (2012). Preparasi nanokristalin hidroksiapatit untuk scaffold rekayasa jaringan tulang.
- Johnson, Kurt E. *Histologi & Biologi Sel*. Translated by Fajar Arifin Gunawijaya. Tangerang: Binarupa Aksara, 2011.
- Junqueira, L. c. (2007). *Histologi Dasar: Teks dan Atlas* (10 ed.). Jakarta: EGC.
- Kaigler, D., Avila, G., Lynch, L. W., Nevins, M. L., Nevins, M., Rasperini, G., et al. (2011). Platelet-derived growth factor applications in periodontal and peri-implant bone regeneration.
- Lichtenauer, M., Nickl, S., Hoetzenecker, K., Mangold, A., Moser, B., Zimmermann, M., et al. (2009). Phosphate Buffered Saline Containing Calcium and Magnesium Elicits Increased Secretion of Interleukin-1 Receptor Antagonist. *LABMEDICINE*, 40(5), 290-293.
- Lim, Y. M., Gwon, H. J., Choi, J. H., Shin, J., Nho, Y. C., Jeong, S. i., et al. (2010). Preparation and biocompatibility study of gelatin/kappa-carrageenan.
- Maddu, A., Modjahidin, K., Sardy, S., & Zain, H. (2006). Pengaruh Kelembaban Terhadap Sifat Optik Film Gelatin. *Makara Sains*, 10, 30-34.
- Martin NC, Pirie AA, Ford LV, Callaghan CL, McTurk K, Lucy D, et al. (2007). The use of phosphate buffered saline for the recovery of cells and spermatozoa from swabs. *Science Justice*, 46(3), 179-184.
- Matsui, M., & Tabata, Y. (2012). Enhance angiogenesis by multiple release of platelet-rich plasma contents and basic fibroblast growth factor from gelatin hydrogel.

- Mescher, A. L. (2011). *Histologi Dasar JUNQUEIRA Teks dan Atlas*. Jakarta: EGC.
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials and scaffold for tissue engineering. *Anatomy articles*.
- Omar, N. S., Kannan, T. P., Ismail, A. R., Abdul Hamid, S. S., & Samsudin, A. R. (2011). In vitro Cytotoxic evaluation of processed natural coral on human lung fibroblasts.
- Pal, K., Banthia, A. K., & Majumdar, D. K. (2009). Polymeric Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications-A mini review. *Designed Monomers and Polymers*, 197-220.
- Patel, V., & Dwivedi, S.K. (2013). A review: polarity of molecules. *IJPRS Journal*. 2: 549-561.
- Raggatt, L. Z., & Partridge, N. C. (2010). Cellular and Molecular Mechanisms of Bone Remodeling.
- Ratanavaraporn, J., Damrongsakkul, S., Sanchavanakit, N., Banaprasert, T., & Kanokpanont, S. (2006). Comparison of gelatin and collagen scaffolds for fibroblast cell culture.
- Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffold work. review on the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. 5.
- Saito, T., & Tabata, Y. (2012). Preparation of gelatin hydrogels incorporating low-molecular-weight heparin for antibiotic therapy. *Acta Biomater*. 8: 646-52.
- Sarkar, N.K., Caicedo, R., Ritwik, P., Moiseyeva, R., & Kawashima, I. (2005). Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J. Endod*. 31: 97-100.
- Suardita, K., Arundina, I., & Prijambodo, S. K. (2009). Regenerasi kerusakan tulang alveolar dengan mesenchymal stem cell.
- Sunarso, Sutarno, Tsuru, K., Ana, I. D., & Ishikawa, K. (2011). Effect of crosslinking to the mechanical property of apatite gelatin hybrid bone substitution purposes. *Indo Journal Chem*, 11(3), 267-272.
- Tabata, Y. (2003). Tissue regeneration based on drug delivery technology.
- Torres, J., Tamimi, F., Alkhraisat, M., Frutos, J. P., & Cabarcos, E. L. (2011). Bone substitutes. (Implant Dentistry).

UU No. 31 tahun 2004 tentang Konservasi Sumberdaya Ikan

- Warastuti, Y., & Suryani, N. (2013). Degradation Characteristics of Irradated Poly-(caprolaktone-chitosan-hydroxyapatite) biomaterial in simulated body fluid solution. *9*.
- Winoto, A. (2010). Comparative analysis of mesenchymal stem cell from bone marrow and adipose tissue for osteogenic differentiation. *38*.
- Wu, L., & Ding, J. (2004). In Vitro Degradation of Three-Dimensional Porous Poly (D,L-lactide-co-glycolide) Scaffold for Tissue Engineering. *Biomaterials*, *25*, 5821-5830.
- Wu, Y. C., Lee, T. M., Chiu, K. H., Shaw, S. Y., & Yang, C. y. (2009). A comparative study of the physical and mechanical properties of three natural corals based on the criteria for bone-tissue engineering scaffold. *J Mater Sci: Mater Med*, 1273-1280.
- Young, S., Wong, M., Tabata, Y., & Mikos, A. G. (2005). Gelatin as A Delivery Vehicle For The Contolled Release Bioactive Molecul. *Journal of Controlled Release*, *109*(1-3), 256-274.
- Zhang, N., wu, Y. P., Qian, S. J., Teng, C., Chen, S., & Li, H. (2013). Riview article: Research progresss in the mechanism of effect of PRP in bone deficiency healing.
- Zhu, N., Cooper, D., Chen, X. B., & Niu, C. H. (2013). A study on the in vitro degradation of poly(L-lactide)/chitosan microspheres scaffolds. *Front Materials Science*, *7*(1), 76-82.







**LAMPIRAN 3. Nilai absorbansi**

KOMPOSISI	SAMPSEL	NILAI ABSORBANSI											TOTAL
		1	3	6	24	48	72	96	HCl1	HCl3	HCl6	HCl24	
5:5	1	0,102	0,001	0,061	0,168	0,300	0,488	0,332	0,341	0,151	0,107	0,088	2,140
	2	0,076	0,045	0,018	0,125	0,364	0,386	0,453	0,350	0,154	0,121	0,127	2,220
	3	0,102	0,043	0,072	0,120	0,321	0,412	0,387	0,311	0,143	0,067	0,116	2,094
4:6	1	0,070	0,050	0,053	0,191	0,331	0,433	0,343	0,409	-	-	-	1,880
	2	0,085	0,067	0,064	0,206	0,341	0,384	0,358	0,343	0,162	-	-	2,011
	3	0,096	0,045	0,045	0,183	0,447	0,373	0,324	0,338	0,152	-	-	2,003
Gelatin	1	0,090	0,047	0,073	0,137	0,305	0,367	0,354	0,172	0,221	0,123	0,162	2,051
	2	0,128	0,049	0,066	0,149	0,347	0,509	0,357	0,154	0,157	0,104	0,172	2,191
	3	0,096	0,036	0,001	0,160	0,299	0,319	0,440	0,159	0,169	0,147	0,169	1,994

#### LAMPIRAN 4. Persentase degradasi

KOMPOSISI	SAMPEL	Persentase Degradasi membran (%)										
		1	3	6	24	48	72	96	HCl1	HCl3	HCl6	HCl24
5:5	1	4,77	4,81	7,65	15,50	29,54	52,36	67,88	83,83	90,87	95,89	100
	2	3,44	5,47	6,29	11,92	28,33	45,74	66,13	81,88	88,81	94,28	100
	3	4,89	6,94	10,39	16,13	31,45	51,11	69,58	84,43	91,28	94,46	100
Mean		4,36	5,74	8,11	14,52	29,78	49,74	67,86	83,38	90,32	94,88	100
SD		0,80	1,09	2,09	2,27	1,57	3,52	1,73	1,34	1,32	0,88	0
4:6	1	3,72	6,38	9,22	19,39	36,98	59,99	78,25	100,00			
	2	4,23	7,57	10,74	21,00	37,95	57,04	74,86	91,93	100,00		
	3	4,79	7,06	9,29	18,44	40,75	59,37	75,53	92,43	100,00		
Mean		4,25	7,00	9,75	19,61	38,56	58,80	76,21	94,79	100,00		
SD		0,54	0,60	0,86	1,29	1,96	1,55	1,79	4,52	0		
Gelatin	1	4,39	6,66	10,22	16,89	31,76	49,65	66,93	75,31	86,09	92,10	100
	2	5,83	8,05	11,06	17,86	33,70	56,95	73,22	80,27	87,43	92,16	100
	3	4,81	6,62	6,65	14,68	29,66	45,65	67,74	75,69	84,15	91,51	100
Mean		5,01	7,11	9,31	16,47	31,70	50,75	69,30	77,09	85,89	91,92	100
SD		0,74	0,81	2,34	1,63	2,02	5,73	3,43	2,76	1,65	0,36	0

## LAMPIRAN 5. Analisa data

### 1. Uji Normalitas

Tests of Normality<sup>b,c,d,e</sup>

KOMPOSISI	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
PBS 1 JAM	5 : 5	,179	3	.	,999	3	,948
	4 : 6	,359	3	.	,812	3	,143
	Gelatin 100%	,273	3	.	,945	3	,549
PBS 3 JAM	5 : 5	,204	3	.	,993	3	,843
	4 : 6	,264	3	.	,954	3	,587
	Gelatin 100%	,374	3	.	,776	3	,059
PBS 6 JAM	5 : 5	,371	3	.	,784	3	,078
	4 : 6	,254	3	.	,964	3	,633
	Gelatin 100%	,319	3	.	,885	3	,340
PBS 24 JAM	5 : 5	,334	3	.	,859	3	,266
	4 : 6	,234	3	.	,978	3	,718
	Gelatin 100%	,267	3	.	,952	3	,577
PBS 48 JAM	5 : 5	,226	3	.	,983	3	,754
	4 : 6	,289	3	.	,927	3	,478
	Gelatin 100%	,179	3	.	,999	3	,951
PBS 72 JAM	5 : 5	,319	3	.	,886	3	,341
	4 : 6	,310	3	.	,899	3	,383
	Gelatin 100%	,242	3	.	,973	3	,685
PBS 96 JAM	5 : 5	,176	3	.	1,000	3	,984
	4 : 6	,315	3	.	,891	3	,358
	Gelatin 100%	,344	3	.	,842	3	,219
HCI 1 JAM	5 : 5	,299	3	.	,915	3	,433
	4 : 6	,366	3	.	,796	3	,106
	Gelatin 100%	,363	3	.	,802	3	,118
HCI 3 JAM	5 : 5	,328	3	.	,871	3	,297
	4 : 6	,385	3	.	,750	3	,000
	Gelatin 100%	,221	3	.	,986	3	,772
HCI 6 JAM	5 : 5	,348	3	.	,833	3	,195
	Gelatin 100%	,355	3	.	,819	3	,160

a. Lilliefors Significance Correction

b. HCI 6 JAM is constant when KOMPOSISI = 4 : 6. It has been omitted.

c. HCI 24 JAM is constant when KOMPOSISI = 5 : 5. It has been omitted.

d. HCI 24 JAM is constant when KOMPOSISI = 4 : 6. It has been omitted.

e. HCI 24 JAM is constant when KOMPOSISI = Gelatin 100%. It has been omitted.

## 2. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
PBS 1 JAM	,591	2	6	,583
PBS 3 JAM	,833	2	6	,479
PBS 6 JAM	1,765	2	6	,250
PBS 24 JAM	,971	2	6	,431
PBS 48 JAM	,112	2	6	,896
PBS 72 JAM	2,111	2	6	,202
PBS 96 JAM	1,951	2	6	,222
HCI 1 JAM	3,988	2	6	,079
HCI 6 JAM	9,544	2	6	,014

## 3. Uji ANOVA Satu Jalur

**ANOVA**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PBS 1 JAM	Between Groups	1,011	2	,505	1,023	,415
	Within Groups	2,965	6	,494		
	Total	3,976	8			
PBS 3 JAM	Between Groups	3,494	2	1,747	2,378	,174
	Within Groups	4,408	6	,735		
	Total	7,902	8			
PBS 6 JAM	Between Groups	4,328	2	2,164	,613	,572
	Within Groups	21,179	6	3,530		
	Total	25,508	8			
PBS 24 JAM	Between Groups	39,601	2	19,801	6,261	,034
	Within Groups	18,974	6	3,162		
	Total	58,576	8			
PBS 48 JAM	Between Groups	127,879	2	63,939	18,462	,003
	Within Groups	20,780	6	3,463		
	Total	148,658	8			
PBS 72 JAM	Between Groups	147,880	2	73,940	4,660	,060
	Within Groups	95,196	6	15,866		
	Total	243,076	8			
PBS 96 JAM	Between Groups	119,508	2	59,754	10,050	,012
	Within Groups	35,674	6	5,946		
	Total	155,181	8			
HCI 1 JAM	Between Groups	482,209	2	241,104	24,294	,001
	Within Groups	59,548	6	9,925		
	Total	541,757	8			

## 4. Uji Post Hoc Least Significant Difference (LSD)

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KOMPOSISI	(J) KOMPOSISI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PBS 1 JAM	5 : 5	4 : 6	-,12000	,57397	,841	-1,5244	1,2844
		Gelatin 100%	-,76333	,57397	,232	-2,1678	,6411
	4 : 6	5 : 5	,12000	,57397	,841	-1,2844	1,5244
		Gelatin 100%	-,64333	,57397	,305	-2,0478	,7611
	Gelatin 100%	5 : 5	,76333	,57397	,232	-,6411	2,1678
		4 : 6	,64333	,57397	,305	-,7611	2,0478
PBS 3 JAM	5 : 5	4 : 6	1,26333	,69984	,121	-,4491	2,9758
		Gelatin 100%	-,11000	,69984	,880	-1,8224	1,6024
	4 : 6	5 : 5	-1,26333	,69984	,121	-2,9758	,4491
		Gelatin 100%	-1,37333	,69984	,097	-3,0858	,3391
	Gelatin 100%	5 : 5	,11000	,69984	,880	-1,6024	1,8224
		4 : 6	1,37333	,69984	,097	-,3391	3,0858
PBS 6 JAM	5 : 5	4 : 6	1,64000	1,53404	,326	-2,1137	5,3937
		Gelatin 100%	,43667	1,53404	,785	-3,3170	4,1903
	4 : 6	5 : 5	-1,64000	1,53404	,326	-5,3937	2,1137
		Gelatin 100%	-1,20333	1,53404	,463	-4,9570	2,5503
	Gelatin 100%	5 : 5	-,43667	1,53404	,785	-4,1903	3,3170
		4 : 6	1,20333	1,53404	,463	-2,5503	4,9570
PBS 24 JAM	5 : 5	4 : 6	-5,09333*	1,45198	,013	-8,6462	-1,5405
		Gelatin 100%	-1,96000	1,45198	,226	-5,5129	1,5929
	4 : 6	5 : 5	5,09333*	1,45198	,013	1,5405	8,6462
		Gelatin 100%	3,13333	1,45198	,074	-,4195	6,6862
	Gelatin 100%	5 : 5	1,96000	1,45198	,226	-1,5929	5,5129
		4 : 6	-3,13333	1,45198	,074	-6,6862	,4195
PBS 48 JAM	5 : 5	4 : 6	-8,78667*	1,51949	,001	-12,5047	-5,0686
		Gelatin 100%	-1,93667	1,51949	,250	-5,6547	1,7814
	4 : 6	5 : 5	8,78667*	1,51949	,001	5,0686	12,5047
		Gelatin 100%	6,85000*	1,51949	,004	3,1319	10,5681
	Gelatin 100%	5 : 5	1,93667	1,51949	,250	-1,7814	5,6547
		4 : 6	-6,85000*	1,51949	,004	-10,5681	-3,1319
PBS 72 JAM	5 : 5	4 : 6	-9,06333*	3,25228	,032	-17,0214	-1,1053
		Gelatin 100%	-1,02000	3,25228	,764	-8,9781	6,9381
	4 : 6	5 : 5	9,06333*	3,25228	,032	1,1053	17,0214
		Gelatin 100%	8,04333*	3,25228	,048	,0853	16,0014
	Gelatin 100%	5 : 5	1,02000	3,25228	,764	-6,9381	8,9781
		4 : 6	-8,04333*	3,25228	,048	-16,0014	-,0853
PBS 96 JAM	5 : 5	4 : 6	-8,35000*	1,99091	,006	-13,2216	-3,4784
		Gelatin 100%	-1,44333	1,99091	,496	-6,3149	3,4283
	4 : 6	5 : 5	8,35000*	1,99091	,006	3,4784	13,2216
		Gelatin 100%	6,90667*	1,99091	,013	2,0351	11,7783
	Gelatin 100%	5 : 5	1,44333	1,99091	,496	-3,4283	6,3149
		4 : 6	-6,90667*	1,99091	,013	-11,7783	-2,0351
HCI 1 JAM	5 : 5	4 : 6	-11,40667*	2,57224	,004	-17,7007	-5,1126
		Gelatin 100%	6,27667	2,57224	,050	-,0174	12,5707
	4 : 6	5 : 5	11,40667*	2,57224	,004	5,1126	17,7007
		Gelatin 100%	17,68333*	2,57224	,000	11,3893	23,9774
	Gelatin 100%	5 : 5	-6,27667	2,57224	,050	-12,5707	,0174
		4 : 6	-17,68333*	2,57224	,000	-23,9774	-11,3893

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

5. Uji *Kruskal Wallis***Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	HCI 3 JAM	HCI 6 JAM
Chi-Square	2,420	7,448
df	2	2
Asy mp. Sig.	,298	,024

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: KOMPOSISI



**LAMPIRAN 6. Alat dan Bahan**

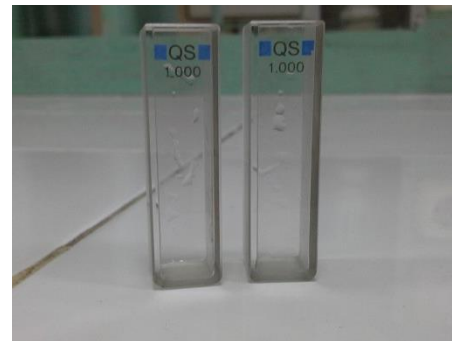
Mikrotube



Bluetip



Mikropipet

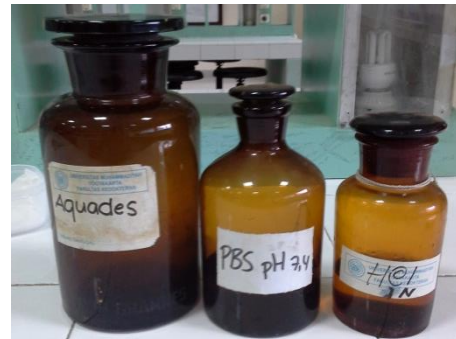


Kuvet kaca

*Centrifuge Rotina 35R**Uv-vis Spectrophotometers  
UVmini-1240 Shimadzu*



Inkubator *Memmert*



Larutan Aquades; PBS pH 7,4; dan HCl 1N

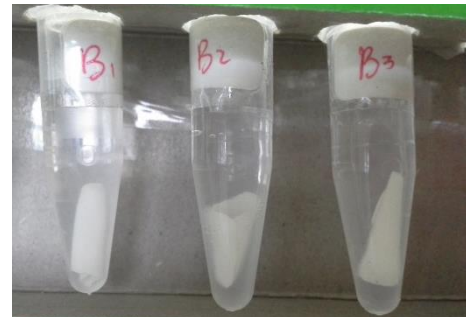
### LAMPIRAN 7. Jalannya Penelitian



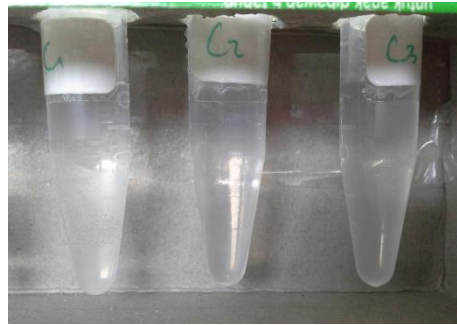
Keadaan seluruh sampel perancah ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 dimulai.



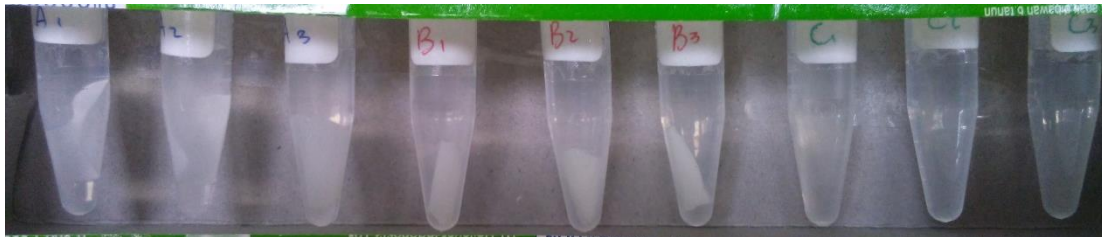
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  5:5 ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 dimulai.



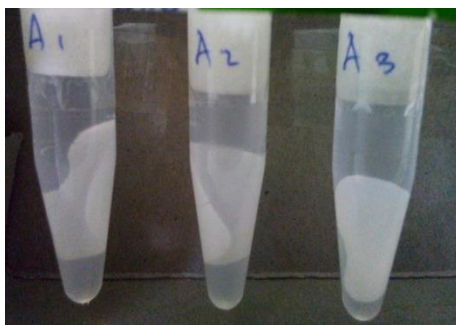
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin- $\text{CaCO}_3$  4:6 ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 dimulai.



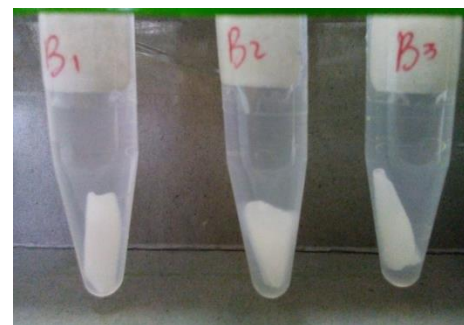
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin 10% ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 dimulai.



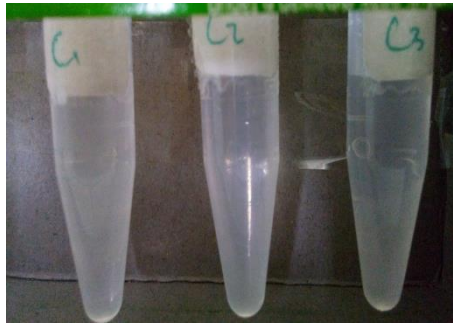
Keadaan seluruh sampel perancah ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 setelah inkubasi 24 jam. Seluruh sample telah mengalami *swelling*.



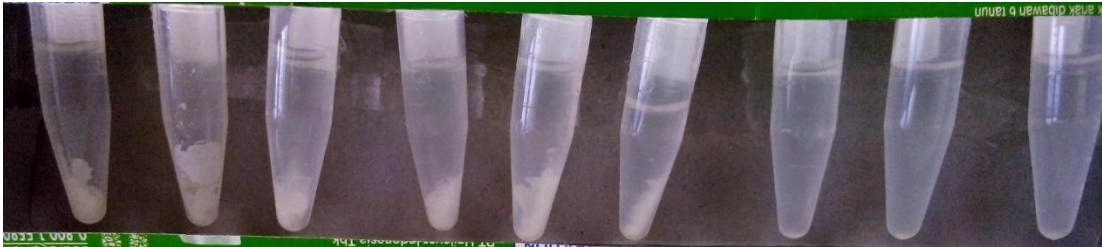
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> 5:5 ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 setelah inkubasi 24 jam.



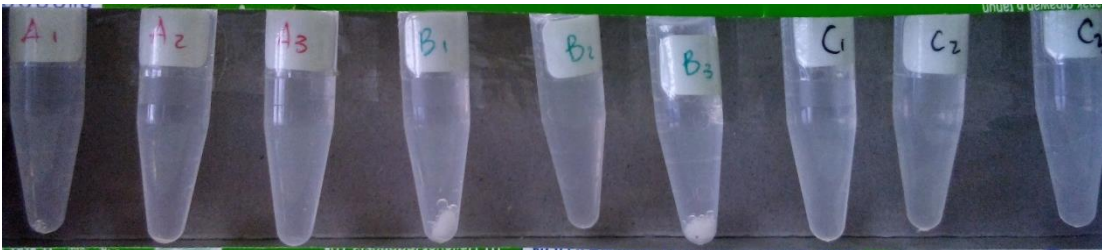
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin-CaCO<sub>3</sub> 4:6 ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 setelah inkubasi 24 jam.



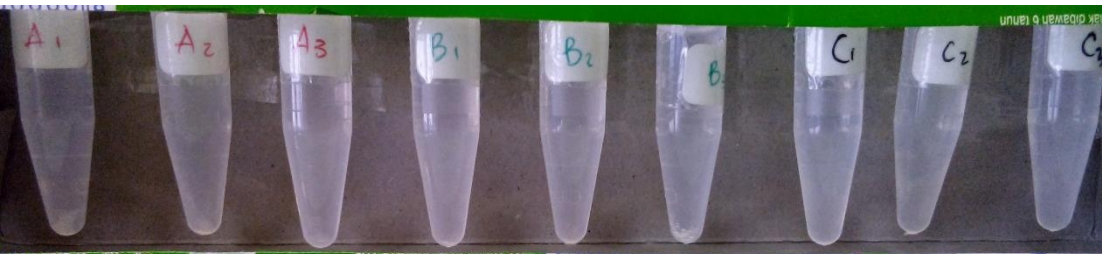
Keadaan sampel perancah konsentrasi gelatin-10% ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 setelah inkubasi 24 jam.



Keadaan seluruh sampel perancah ketika perendaman pada larutan PBS pH 7,4 setelah inkubasi 72 jam. Seluruh sample telah pacah dan rontok.



Keadaan seluruh sampel perancah ketika perendaman pada larutan HCl 1N dimulai. Karakteristik sampel perancah komposisi 5:5 dan gelatin-10% menyerupai membran transparan tipis.



Keadaan seluruh sampel perancah ketika perendaman pada larutan HCl 1N setelah inkubasi 1 jam. Karakteristik seluruh sampel menyerupai membran tipis trasparan, dan salah satu sampel telah habis yaitu pada B1.